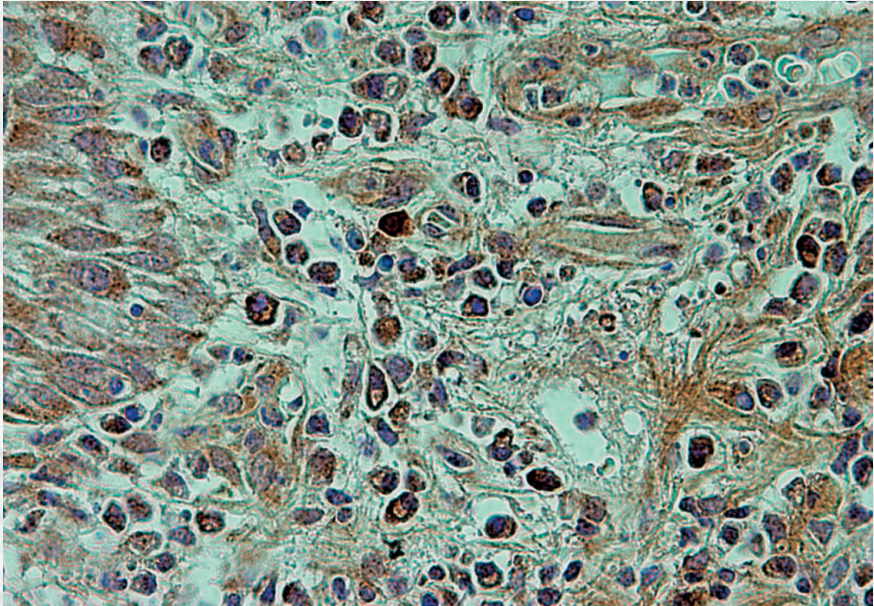


Nachweis und Einfluss von Matrix-Metalloproteinasen bei der Parodontitis des Hundes



INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Susanne Maria Kaiser

Bibliografische Informationen der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der
Deutschen Nationalbibliografie;
Detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

1. Auflage 2014

© 2014 by Verlag: **Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft Service GmbH**,
Gießen
Printed in Germany

ISBN 978-3-86345-207-0

Verlag: DVG Service GmbH
Friedrichstraße 17
35392 Gießen
0641/24466
info@dvj.de
www.dvj.de

Aus dem Klinikum Veterinärmedizin
Klinik für Kleintiere, Chirurgie
der Justus-Liebig-Universität Gießen
Betreuer: Prof. Dr. Dr. h.c. M. Kramer

**Nachweis und Einfluss von Matrix-Metalloproteinasen
bei der Parodontitis des Hundes**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Susanne Maria Kaiser
Tierärztin aus Stuttgart

Gießen 2014

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. M. Kramer

Gutachter:

Prof. Dr. Dr. h.c. M. Kramer

Prof. Dr. C. Staszyk

Tag der Disputation: 17. April 2014

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|--------------|
| Inhaltsverzeichnis | S. I |
| Abkürzungsverzeichnis | S. VI |
| 1 Einleitung | S. 1 |
| 2 Literaturübersicht | S. 3 |
| 2.1 Anatomie der Mundhöhle, der gesunden und erkrankten Gingiva, der Zähne und des Zahnhalteapparates des Hundes | S. 3 |
| 2.1.1 Anatomie der Mundhöhle | S. 3 |
| 2.1.2 Histologische Anatomie der gesunden Gingiva | S. 4 |
| 2.1.3 Allgemeiner Aufbau der Zähne | S. 5 |
| 2.1.4 Anatomie der Zähne des Hundes | S. 6 |
| 2.1.5 Anatomie des Zahnhalteapparates | S. 7 |
| 2.2 Parodontitis beim Hund | S. 8 |
| 2.2.1 Pathomorphologische Veränderungen bei der Gingivitis und Parodontitis | S. 14 |
| 2.2.2 Histologische Anatomie der erkrankten Gingiva | S. 15 |
| 2.2.3 Auswirkungen einer Parodontitis auf die allgemeine Gesundheit | S. 16 |
| 2.2.4 Prognose | S. 17 |
| 2.3 Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) und ihre Inhibitoren | S. 17 |
| 2.3.1 Familie der Matrix-Metalloproteinasen | S. 17 |
| 2.3.2 Einteilung der Matrix-Metalloproteinasen | S. 18 |
| 2.3.3 Struktureller Aufbau der Matrix-Metalloproteinasen | S. 22 |
| 2.3.4 Aktivierung der Matrix-Metalloproteinasen | S. 27 |
| 2.3.5 Tissue Inhibitoren der Metalloproteinasen (TIMPs) | S. 27 |
| 2.3.6 Weitere Inhibitoren der Matrix-Metalloproteinasen | S. 29 |
| 2.3.7 Matrix-Metalloproteinasen und ihre Rolle bei verschiedenen Erkrankungen in der Human- und Tiermedizin | S. 30 |
| 2.3.8 Bedeutung der Matrix-Metalloproteinasen bei der Pathogenese der Parodontitis | S. 31 |

INHALTSVERZEICHNIS

| | | |
|----------|--|--------------|
| 2.3.9 | Die Rolle der Matrix-Metalloproteinasen bei der humanen Parodontitis | S. 31 |
| 2.3.10 | Die Rolle der Matrix-Metalloproteinasen bei der Parodontitis des Hundes | S. 34 |
| 3 | Eigene Untersuchungen | S. 36 |
| 3.1 | Material und Methoden | S. 36 |
| 3.1.1 | Patientengut | S. 36 |
| 3.1.2 | Anamnese, allgemeine klinische Untersuchung, labordiagnostische Untersuchung | S. 37 |
| 3.1.3 | Anästhesie | S. 37 |
| 3.1.4 | Spezielle klinische und radiologische Untersuchung der Mundhöhle | S. 38 |
| 3.1.5 | Probenentnahme, Lagerung, Transport und Aufarbeitung | S. 44 |
| 3.1.6 | Histochemische Färbemethoden | S. 45 |
| 3.1.6.1 | HE (Hämatoxylin / Eosin) – Übersichtsfärbung | S. 45 |
| 3.1.6.2 | Immunhistologischer Nachweis | S. 45 |
| 3.1.7 | Immunhistologisches Protokoll | S. 46 |
| 3.1.8 | Positivkontrollen | S. 47 |
| 3.1.9 | Negativkontrollen | S. 49 |
| 3.1.10 | Lichtmikroskopische Auswertung | S. 49 |
| 3.1.11 | Statistische Auswertung | S. 51 |
| 3.1.11.1 | Statistische Auswertung bezüglich der klinischen Einteilung in Grade der Parodontalerkrankung, des histologisch ermittelten Entzündungsgrades und des klinisch ermittelten Gingivitisindex | S. 52 |
| 3.1.11.2 | Statistische Auswertung bezüglich des Kollagenfasergehaltes | S. 54 |
| 4 | Ergebnisse | S. 55 |
| 4.1 | Ergebnisse der klinischen Untersuchung | S. 55 |
| 4.2 | Ergebnisse der histologischen Auswertung der HE-Schnitte | S. 55 |
| 4.3 | Charakteristik der immunhistologischen Signale von MMP-2, -3, -8 und -9, TIMP-1 und TIMP-2 | S. 58 |
| 4.4 | Reaktion von Osteoblasten und Osteoklasten, faserassoziierte Reaktionen | S. 60 |

INHALTSVERZEICHNIS

| | | |
|----------|--|--------------|
| 4.5 | Ergebnisse der immunhistologischen Untersuchungen bezüglich der klinischen Einteilung in Grade der Parodontalerkrankung, des histologisch ermittelten Entzündungsgrades und des klinisch ermittelten Gingivitisindex | S. 70 |
| 4.5.1 | MMP-2 | S. 71 |
| 4.5.2 | MMP-3 | S. 71 |
| 4.5.3 | MMP-8 | S. 71 |
| 4.5.4 | MMP-9 | S. 71 |
| 4.5.5 | TIMP-1 | S. 71 |
| 4.5.6 | TIMP-2 | S. 71 |
| 4.6 | Ergebnisse der immunhistologischen Untersuchungen bezüglich des Kollagenfasergehaltes | S. 77 |
| 4.6.1 | MMP-2 | S. 78 |
| 4.6.2 | MMP-3 | S. 78 |
| 4.6.3 | MMP-8 | S. 78 |
| 4.6.4 | MMP-9 | S. 78 |
| 4.6.5 | TIMP-1 | S. 78 |
| 4.6.6 | TIMP-2 | S. 78 |
| 5 | Diskussion | S. 82 |
| 5.1 | Modalitäten der Probenentnahme | S. 82 |
| 5.2 | Klinische Untersuchung und histologische Untersuchung von HE-gefärbten Präparaten | S. 83 |
| 5.3 | Immunhistologische Untersuchungen | S. 84 |
| 5.3.1 | MMP-2 | S. 85 |
| 5.3.2 | MMP-3 | S. 87 |
| 5.3.3 | MMP-8 | S. 88 |
| 5.3.4 | MMP-9 | S. 89 |
| 5.3.5 | TIMP-1 und TIMP-2 | S. 90 |
| 5.3.6 | MMPs und TIMPs bei der Parodontitis des Hundes | S. 93 |

INHALTSVERZEICHNIS

| | | |
|----------|--|---------------|
| 5.3.7 | Zusammenspiel der MMPs | S. 94 |
| 5.3.8 | Zellulärer Ursprung der MMP-Produktion | S. 96 |
| 5.3.9 | Inhibition von Matrix-Metalloproteinasen als möglicher Therapieansatz bei der Parodontitis und anderen Erkrankungen | S. 98 |
| 5.3.10 | Ausblick | S. 100 |
| 6 | Zusammenfassung | S. 102 |
| 7 | Summary | S. 104 |
| 8 | Literaturverzeichnis | S. 106 |
| 9 | Anhang | S. 122 |
| 9.1 | Untersuchte Hunde | S. 122 |
| 9.2 | Verwendete Antikörper | S. 131 |
| 9.3 | Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs an verschiedenen Lokalisationen und der klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen (Parodontalerkrankung Grad 0 – 4, ordinal skaliert) | S. 132 |
| 9.4 | Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs an verschiedenen Lokalisationen und dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad | S. 136 |
| 9.5 | Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs an verschiedenen Lokalisationen und dem klinisch ermittelten Gingivitisindex | S. 140 |
| 9.6 | Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs an verschiedenen Lokalisationen und zunehmender Veränderung im Kollagenfasergehalt | S. 143 |
| 9.7 | Ergebnisse der statistischen Auswertung | S. 148 |
| 9.8 | Auswertungsbogen für HE-Schnitte | S. 169 |
| 9.9 | Auswertungsbogen für die Immunhistologie | S. 171 |
| 9.10 | Lösungen und Puffer für die Immunhistologie | S. 174 |
| 9.11 | Bezugsquellen von Reagenzien und Antikörpern | S. 175 |
| 9.12 | Bezugsquellen für Laborgeräte und Zubehör | S. 177 |
| 9.13 | Bezugsquellen von Anästhetika, Parodontalsonde, Biopsiestanzen und Röntgenanlage | S. 178 |

INHALTSVERZEICHNIS

| | | |
|------|-----------------------|--------|
| 9.14 | Abbildungsverzeichnis | S. 179 |
| 9.15 | Tabellenverzeichnis | S. 184 |
| | Danksagung | S. 187 |
| | Erklärung | S. 188 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---------------------|---|
| a | Lokalisation mit klinisch unveränderter Gingiva |
| α | Signifikanzniveau |
| ABC | Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex |
| α -Bonf.Holm | im Rahmen der Bonferroni-Holm-Prozedur ermittelter neuer α -Wert |
| ADAM | A Disintegrin And Metalloproteinase |
| ADAMTS | ADAM with Thrombospondin type-1 motif |
| ALVE | Alveolarknochenbereich Entzündungszellen |
| ALVF | Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten |
| ALVG | Alveolarknochenbereich gesamt |
| Aqua dest. | destilliertes Wasser |
| b | Lokalisation mit klinisch veränderter Gingiva |
| bFGF | basic Fibroblast Growth Factor |
| BMP-1 | Bone Morphogenetic Protein-1 |
| BPAB | Black-Pigmented Anaerobic Bacteria, schwarzpigmentierte anaerobe Bakterien |
| BSA | Bovines Serumalbumin |
| c | Lokalisation am Übergangsbereich zwischen klinisch unveränderter und klinisch veränderter Gingiva |
| C | Caninus |
| CA-MMP | cysteine array –MMP |
| CL-82198 | synthetischer MMP-13-Inhibitor |
| CMMP | Chicken MMP |
| CMTs | Chemisch modifizierte Tetracycline |
| CSP | Chondroitin-Sulfat-Proteoglykan |
| Da | Dalton (Einheit des Molekulargewichts) |
| DAB | 3,3'-Diaminobenzidine-Tetrahydrochloride Dihydrate |
| DH82 | Zellpellet einer Makrophagen/Monozyten-Zell-Linie eines disseminierten histiozytären Sarkoms bei einem Hund |
| EBE | Essigsäure-n-Butylester |
| ELISA | Enzyme-linked Immunosorbent Assay |
| EMMPRIN | Extrazellulärer Matrix-Metalloproteinase-Induktor |
| END | Endothel |
| EP | Epithel |

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

| | |
|-------------------------------|---|
| Er:YAG-Laser | Erbium-Yttrium-Aluminium-oxid-Granat-Laser |
| FAS | Alveolarknochenbereich faserassoziiert |
| FDI | Fédération Dentaire Internationale |
| FGF-1 | Fibroblast Growth Factor-1 |
| ggr | geringgradig |
| GPI | Glycosyl-Phosphatidyl-Inositol |
| h | Stunde |
| H1, H2, H3... | chronologische Nummerierung der untersuchten Hunde |
| H ₂ O ₂ | Wasserstoffperoxid |
| HB-EGF | Heparin-Binding Epidermal Growth Factor-like Growth Factor |
| HE-Färbung | Hämatoxylin-Eosin-Färbung |
| hgr | hochgradig |
| I | Inzisivus |
| IGF-1 | Insulin-like Growth Factor-1 |
| IgA | Immunglobulin A |
| IgG | Immunglobulin G |
| Il-1 β | Interleukin-1 β |
| k | Zahl der untersuchten Variablen minus die Zahl der bereits durchgeführten Divisionen im Rahmen der Bonferroni-Holm-Prozedur |
| kDa | Kilodalton |
| kg | Kilogramm |
| lat. | lateinisch |
| LDC | Lysindecaboxylase |
| LPS | Lipopolysaccharid |
| m | männlich |
| M | Molar |
| M1 | erster Molar |
| M2 | zweiter Molar |
| M3 | dritter Molar |
| M10A | Subfamilie der Matrix-Metalloproteinasen (nach RAWLINGS et al., 2010) |
| M10B | Subfamilie der Serralsine (nach RAWLINGS et al., 2010) |
| M10C | Subfamilie der Fragilysine (nach RAWLINGS et al., 2010) |
| M12A | Subfamilie der Astacine (nach RAWLINGS et al., 2010) |
| M12B | Subfamilie der Adamalsine (nach RAWLINGS et al., 2010) |

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

| | |
|------------|--|
| MBP | Myelin Basic Protein, basisches Myelinprotein |
| mg | Milligramm |
| mgr | mittelgradig |
| min | Minuten |
| mk | männlich-kastriert |
| ml | Milliliter |
| µl | Mikroliter |
| MLPE | Mittlere Lamina propria Entzündungszellen |
| MLPF | Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten |
| MLPG | Mittlere Lamina propria gesamt |
| mm | Millimeter |
| µm | Mikrometer |
| MMP | Matrix-Metalloproteinase |
| MMPs | Matrix-Metalloproteinasen |
| MT-MMP | Membrane-Type Matrix-Metalloproteinase |
| mRNA | messenger-RNA, Boten-Ribonukleinsäure |
| NaCl | Natriumchlorid |
| NSAID | Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug, nicht-steroidales Antiphlogistikum |
| NTR-Module | Netrin-Module |
| n.v. | Zellart nicht vorhanden |
| p | p-Wert |
| P | Prämolar |
| P2 | zweiter Prämolar |
| P3 | dritter Prämolar |
| P4 | vierter Prämolar |
| PBS | Phosphate Buffered Saline, phosphatgepufferte Salzlösung |
| PCOLCEs | Type I Procollagen C-proteinase Enhancer Proteins |
| PCR | Polymerase Chain Reaction, Polymerase-Kettenreaktion |
| PERI | Perivaskuläre Infiltrate |
| pos. | positiv |
| PUMP | Putative Metalloproteinase |
| RASI | Rheumatoid Arthritis Synovial Inflammation |
| RECK | Reversion inducing Cysteine-rich protein with Kazal motifs |
| R-HMMP-3 | Rabbit Antibody to Stromelysin-1 (MMP-3) (Triple Point Biologics) |

| | |
|---------------|--|
| RM105-MMP9 | Rabbit Antibody to Gelatinase-B (MMP-9) (Triple Point Biologics) |
| RP2-TIMP2 | Rabbit Antibody to TIMP-2 (Triple Point Biologics) |
| RP3-TIMP1 | Rabbit Antibody to TIMP-1 (Triple Point Biologics) |
| rRNA | ribosomale RNA, ribosomale Ribonukleinsäure |
| r_s | Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman |
| RT-PCR | Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction, Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion |
| s | Sekunden |
| S | Svedberg |
| S1 | Score 1 |
| S2 | Score 2 |
| SDF-1 | Stromal Cell-derived Factor-1 |
| SDS-PAGE | Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis |
| SFRPs | Secreted Frizzled-related Proteins |
| SLPE | Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen |
| SLPF | Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten |
| SLPG | Subepitheliale Lamina propria gesamt |
| SPA-MMP-8 | Superpool of domain-specific rabbit polyclonal antibodies to human MMP-8 (Triple Point Biologics) |
| ssp. | Subspezies, Unterart |
| STR | Stratum basale |
| TFPI-2 | Tissue Factor Pathway Inhibitor-2 |
| TGF- β | Transforming Growth Factor- β |
| TIMP | Tissue Inhibitor of Metalloproteinases |
| TIMPs | Tissue Inhibitors of Metalloproteinases |
| TNF- α | Tumornekrosefaktor- α |
| w | weiblich |
| wk | weiblich-kastriert |
| 1 | TIMP-1 |
| 2 | MMP-2 |
| 3 | MMP-3 |
| 8 | MMP-8 |
| 9 | MMP-9 |
| 22 | TIMP-2 |

1 Einleitung

Die Mundhöhle stellt einerseits den kranialsten Abschnitt des Verdauungsapparates dar (KÖNIG et al., 2011), andererseits ist sie aber auch eines der wichtigsten Organe, mit dem Hunde ihre Umwelt „begreifen“. So dienen die Organe der Mundhöhle des Hundes zum Aufnehmen von Nahrung und Gegenständen, zur Fellpflege, der Kommunikation, als „Waffen“ bei der Jagd oder in kämpferischen Auseinandersetzungen (LOGAN, 2006; FAHRENKRUG, 2007). Von besonderer Bedeutung für die Gesundheit der Mundhöhle ist die Gesundheit des Zahnhalteapparates, welcher die Zähne in den knöchernen Alveolen von Ober- und Unterkiefer verankert. Dennoch weisen über 80 % der adulten Hunde behandlungswürdige Erkrankungen der Mundhöhle und in 60 % der Fälle eine parodontale Erkrankung auf (KYLLAR und WITTER, 2005; FAHRENKRUG, 2007; NIEMIEC, 2008).

Die Parodontitis ist eine progressiv verlaufende, entzündliche Erkrankung des Zahnhalteapparates, bei der es zu dessen Zerstörung und letztendlich zum Verlust des betroffenen Zahnes kommt (EICKHOFF, 2005; GORREL, 2006; FAHRENKRUG, 2007). Eine Parodontitis im fortgeschrittenen Stadium kann zu Schmerzen und Problemen bei der Futteraufnahme führen (HARDHAM et al., 2005). Da es sich jedoch um eine schleichende, progressiv verlaufende Erkrankung handelt, werden Veränderungen bei der Futteraufnahme, im Verhalten der Tiere oder Foetor ex ore vom Besitzer oft erst in einem fortgeschrittenen Stadium festgestellt (EICKHOFF, 2005).

Auch in der Humanmedizin ist die Parodontitis eine häufige Erkrankung (ALBANDAR et al., 1999; ALBUQUERQUE et al., 2012). Auf Grund der ähnlichen Klinik und Pathogenese ist der Hund, und insbesondere der Beagle, ein häufig eingesetztes Tiermodell der humanmedizinischen Parodontitisforschung. Zudem sind Hunde, anders als andere Tiermodelle, wie beispielsweise Primaten, unkompliziert in Haltung und Umgang (OZ und PULEO, 2011; ALBUQUERQUE et al., 2012).

Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) sind eine Familie von Proteinasen, die beim Abbau der extrazellulären Matrix eine wichtige Rolle spielen (STERNLICHT und WERB, 2001; VISSE und NAGASE, 2003). Ihre Gegenspieler sind die TIMPs, die „Tissue Inhibitors of Metalloproteinases“ (BREW et al., 2000; BAKER et al., 2002; VISSE und NAGASE, 2003; BREW und NAGASE, 2010). Humanmedizinische Untersuchungen zeigen, dass Matrix-Metalloproteinasen bei der Parodontitis zur Zerstörung der Kollagenfasern des Zahnhalteapparates beitragen (LEE et al., 1995; KUBOTA et al., 1996; TERVAHARTIALA et al., 2000; MARCACCINI et al., 2009). Untersuchungen von MARCACCINI und Mitarbeitern (2009) lassen zudem schlussfolgern, dass parodontale Erkrankungen durch eine gesteigerte

1 EINLEITUNG

Konzentration zirkulierender Matrix-Metalloproteinasen zu einem proinflammatorischen Zustand führen, der für kardiovaskuläre und andere systemische, chronisch-entzündliche Erkrankungen prädisponiert. Somit stellt die lokale Therapie einer Parodontitis auch eine Prophylaxemaßnahme gegenüber systemischen Erkrankungen dar.

Bislang gibt es jedoch nur wenige Untersuchungen, die sich mit der Rolle der Matrix-Metalloproteinasen bei der Parodontitis des Hundes befassen.

In der vorliegenden Arbeit soll durch immunhistologische Untersuchungen die Hypothese geprüft werden, dass es bei der Parodontitis des Hundes abhängig vom Schweregrad der Erkrankung zu einer gesteigerten Expression von MMPs und zu einer verminderten Expression von TIMPs in der gingivalen Schleimhaut kommt.

Ein Fernziel dieser Arbeit ist die therapeutische Anwendung der gewonnenen Erkenntnisse. Da Matrix-Metalloproteinasen einen entscheidenden, gewebserstörenden Faktor bei der Parodontitis darstellen, ist ihre Inhibition ein interessanter Therapieansatz.

2 Literaturübersicht

2.1 Anatomie der Mundhöhle, der gesunden und erkrankten Gingiva, der Zähne und des Zahnhalteapparates des Hundes

2.1.1 Anatomie der Mundhöhle

Die Mundhöhle stellt den kranialsten Abschnitt des Verdauungsapparates dar (KÖNIG et al., 2011). Die in die Mundhöhle aufgenommene Nahrung wird, bevor sie abgeschluckt wird, mittels Zähnen, Zunge und Speicheldrüsen zerkleinert und eingespeichelt (THOMÉ, 2004; SALOMON, 2008; LIEBICH, 2010; KÖNIG et al., 2011). Knöchern begrenzt wird die Mundhöhle von Anteilen des Os incisivum, des Os palatinum, der Maxilla und der Mandibula. Die Begrenzung nach rostral wird durch die Lippen gebildet, nach lateral durch die Wangen, nach dorsal durch den harten Gaumen und nach ventral durch die Zunge bzw. den sublingualen Mundhöhlenboden. Kaudal schließt sich, durch das Gaumensegel abgetrennt, die Schlundkopfhöhle an (THOMÉ, 2004). Die Zahnbögen von Ober- und Unterkiefer unterteilen die Mundhöhle in das Cavum oris proprium (eigentliche Mundhöhle) und das Vestibulum oris (Mundhöhlenvorhof). Das Cavum oris proprium und das Vestibulum oris stehen kaudal der letzten Backenzähne in Verbindung (THOMÉ, 2004; SALOMON, 2008; KÖNIG et al., 2011). Die Mundhöhle wird von kutaner Schleimhaut ausgekleidet. In ihrer Tela submukosa finden sich die serösen oder mukösen Lippen- und Backendrüsen. Die Glandulae sublingualis, mandibularis und parotis geben ihr Sekret durch eigene Ausführungsgänge in die Mundhöhle ab (THOMÉ, 2004; SALOMON, 2008; KÖNIG et al., 2011). Die Mundschleimhaut des Hundes ist meist blass rosa, sie kann aber auch teilweise oder vollständig dunkel pigmentiert sein (THOMÉ, 2004). Die Gingiva (Zahnfleisch) stellt eine Modifikation der Mundschleimhaut dar, die die Alveolarfortsätze von Ober- und Unterkiefer bedeckt. Es handelt sich um eine drüsenlose Schleimhaut mit einem sehr regenerationsfähigen, mehrschichtigen, geringgradig verhornten Plattenepithel (SALOMON, 2008; LIEBICH, 2010; KÖNIG et al., 2011).

Während sich bei dolichocephalen (langschädelligen) Hunderassen die Mundhöhle als lang und schmal darstellt, ist sie bei brachycephalen (kurzschädelligen) Rassen kurz und breit (THOMÉ, 2004).

2.1.2 Histologische Anatomie der gesunden Gingiva

Die Mundschleimhaut geht an der mukogingivalen Grenzlinie in die Gingiva, das Zahnfleisch, über. Sowohl die Mundschleimhaut als auch die Gingiva setzen sich aus einem mehrschichtigen Plattenepithel und der darunter befindlichen, bindegewebigen Lamina propria zusammen. Das Epithel der Mundschleimhaut ist unverhornt, das Epithel der Gingiva hingegen ist, je nach Lokalisation und mechanischer Belastung, ortho- bis parakeratinisiert. Das orthokeratinisierte mehrschichtige Plattenepithel der Mundhöhle umfasst das Stratum basale, das Stratum spinosum, das Stratum granulosum und das Stratum corneum. Die Zellen des Stratum corneum enthalten anstelle von Zellkern und Zellorganellen zahlreiche Keratinfilamente. Das parakeratinisierte mehrschichtige Plattenepithel besitzt, anders als das orthokeratinisierte Epithel, kein Stratum granulosum, die Zellen des Stratum corneums enthalten sowohl Zellkerne als auch Keratin. Das orthokeratinisierte mehrschichtige Plattenepithel ist somit dicker und mechanisch widerstandsfähiger als das parakeratinisierte (STEINIGER et al., 2010).

Das Epithel der Gingiva ist über eine ausgeprägte Papillenbildung mit der Lamina propria eng verbunden. Die Gingiva wird in die freie Gingiva (Gingiva marginalis) und in die apikal davon gelegene befestigte Gingiva (Gingiva alveolaris) unterteilt. Zwischen der Schmelzoberfläche des Zahnes und der freien Gingiva befindet sich der Sulcus gingivalis. Der Boden des Sulcus gingivalis wird durch das Saumepithel ausgekleidet, welches die Gingiva koronal der Schmelz-Zement-Grenze in Form eines epithelialen Attachments mit dem Zahn verbindet. Das Saumepithel geht in das meist unverhornte Sulkusepithel über, welches wiederum labial bzw. bukkal des Gingivalsaums (Margo gingivalis) in das Gingivaepithel übergeht. Die Lamina propria der Gingiva marginalis wird durch Kollagenfaserbündel stabilisiert, die Gingiva alveolaris ist über horizontal verlaufende Kollagenfaserbündel unverschieblich mit dem Alveolarknochen verbunden (STEINIGER et al., 2010). In der Humanmedizin gilt eine Sondierungstiefe des Sulcus gingivalis von bis zu 2 mm als physiologisch, beim Hund wird je nach Rasse und Zahn eine Sondierungstiefe von 1-3 mm als physiologisch angesehen (EICKHOFF, 2005; GORREL, 2006; STEINIGER et al., 2010).

2.1.3 Allgemeiner Aufbau der Zähne

Die Zähne sind aus drei mineralisierten Substanzen, dem Zahnbein, dem Schmelz und dem Zement, aufgebaut (THOMÉ, 2004; GORREL, 2006; SALOMON, 2008; KÖNIG et al., 2011).

Das Zahnbein wird auch Dentin oder Elfenbein genannt. Dentin ist von gelb-weißer Farbe und wird lebenslang von Odontoblasten als Grundlage des Zahnes gebildet (THOMÉ, 2004; GORREL, 2006; SALOMON, 2008; KÖNIG et al., 2011).

Der Schmelz wird auch als Enamelum, Email oder Adamantin bezeichnet. Er ist die härteste Substanz des Körpers, von weißer Farbe und wird von den ektodermalen Enameloblasten (Adamantoblasten, Ameloblasten) gebildet (THOMÉ, 2004; EICKHOFF, 2005; SALOMON, 2008; LIEBICH, 2010; KÖNIG et al., 2011). Der Schmelz bildet einen 1-3 mm dicken, kappenartigen Überzug auf den schmelzhöckrigen Zähnen der Karnivoren. Das Schmelzoberhäutchen (Schmelzktutikula) bildet seinerseits einen Überzug auf dem Schmelz (THOMÉ, 2004; SALOMON, 2008).

Das Zement (Cementum) bedeckt die Zahnwurzel und bildet zusammen mit dem Ligamentum periodontale (Wurzelhaut) und dem Alveolarknochen einen Teil des Zahnhalteapparates (THOMÉ, 2004; LIEBICH, 2010; KÖNIG et al., 2011). Zahnzement wird von den Zementoblasten gebildet (THOMÉ, 2004; SALOMON, 2008; KÖNIG et al., 2011).

Jeder Zahn besitzt eine Zahnkrone (Corona dentis), eine Zahnwurzel (Radix dentis) und einen Zahnhalss (Collum dentis, Cervix dentis). Die Zahnkrone stellt den freien Teil des Zahnes dar. Die Zahnwurzel ist in der Alveole (Zahnfach) des Kieferknochens verankert. Zahnkrone und Zahnwurzel werden durch den Zahnhalss voneinander abgegrenzt. Dieser ist in die Gingiva (Zahnfleisch) eingebettet (THOMÉ, 2004; SALOMON, 2008; LIEBICH, 2010; KÖNIG et al., 2011).

Die vier Flächen der Zahnkrone werden als labial bzw. bukkal (zum Vestibulum oris hin gerichtet), lingual (zum Cavum oris proprium hin gerichtet), distal (nach kaudal hin gerichtet) und mesial (nach rostral hin gerichtet) bezeichnet. Die Kaufläche wird als Facies occlusalis bezeichnet (SALOMON, 2008; KÖNIG et al., 2011).

Die Zahnhöhle (Pulpahöhle, Cavum dentis) ist von Dentin ausgekleidet. Sie enthält die Zahnpulpa (Pulpa dentis), welche aus lockerem Bindegewebe, Blutgefäßen und Nerven besteht (THOMÉ, 2004; GORREL, 2006; SALOMON, 2008; LIEBICH, 2010; KÖNIG et al., 2011). Über den Wurzelkanal (Canalis radialis dentis) mit seiner Wurzelöffnung (Foramen apicale dentis) treten Blutgefäße und Nerven in die Pulpahöhle ein (siehe Abbildung 1; SALOMON, 2008; LIEBICH, 2010; KÖNIG et al., 2011).

2.1.4 Anatomie der Zähne des Hundes

Der Hund besitzt schmelzhöckerige Wurzelzähne mit abgeschlossenem Wachstum. Es handelt sich um brachyodonte Zähne mit kurzer Zahnkrone und langer Zahnwurzel. Der Zahnbogen des Unterkiefers ist enger als der des Oberkiefers, so dass eine Anisognathie vorliegt. Es handelt sich um ein sekodontes, schneidendes Gebiss (*secare*, lat. = schneiden), bei dem beim Kieferschluss die Zähne des Oberkiefers an der Labial- bzw. Bukkalfläche des Unterkiefers vorbeigleiten. Die Anatomie des Kiefergelenkes lässt zudem nur Bewegungen des Unterkiefers in vertikaler Richtung zu (THOMÉ, 2004; EICKHOFF, 2005; SALOMON, 2008).

Das Gebiss eines adulten Hundes umfasst 42 Zähne. Die vier Quadranten von Ober- und Unterkiefer besitzen je drei Schneidezähne (*Dentes incisivi*) sowie einen Eck- oder Fangzahn (*Dens caninus*). Die Backenzähne werden in Prämolaren und Molaren unterschieden. Jeder Quadrant besitzt vier Prämolaren, die Oberkieferquadranten jeweils zwei Molaren und die Unterkieferquadranten jeweils drei Molaren (THOMÉ, 2004; SALOMON, 2008; KÖNIG et al., 2011).

Die Zahnformel für das Gebiss eines adulten Hundes lässt sich folgendermaßen darstellen:

$$\frac{3I \ 1C \ 4P \ 2M}{3I \ 1C \ 4P \ 3M} = 42 \text{ Zähne}$$

(THOMÉ, 2004; SALOMON, 2008).

Bei den Schneidezähnen, den Eckzähnen und dem P₁ von Ober- und Unterkiefer handelt es sich um einwurzelige Zähne (THOMÉ, 2004; SALOMON, 2008; KÖNIG et al., 2011). Der P₂ und P₃ von Ober- und Unterkiefer sowie der Unterkiefer-P4 sind zweiwurzelige Zähne (THOMÉ, 2004; SALOMON, 2008). Der P4 des Oberkiefers wird auch als Reißzahn (*Dens sectorius*) bezeichnet. Dieser kräftige Zahn besitzt drei Wurzeln. Der Reißzahn des Unterkiefers ist der M₁, er besitzt zwei Wurzeln (THOMÉ, 2004; SALOMON, 2008; KÖNIG et al., 2011). Der M₂ des Unterkiefers ist ebenfalls ein zweiwurzeliger Zahn, der M₃ besitzt nur eine Wurzel. Bei M₁ und M₂ des Oberkiefers handelt es sich jeweils um dreiwurzelige Zähne (THOMÉ, 2004; SALOMON, 2008).

Das Milchgebiss umfasst 28 Zähne. Der Zahnwechsel vollzieht sich im Alter von drei bis sieben Monaten (THOMÉ, 2004; EICKHOFF, 2005; GORREL, 2006; SALOMON, 2008; KÖNIG et al., 2011).

2.1.5 Anatomie des Zahnhalteapparates

Der Zahnhalteapparat, das Parodontium, dient der Verankerung des Zahnes in der Alveole. Er setzt sich aus der Gingiva, dem Ligamentum periodontale (Periodont, Desmodont, parodontales Ligament, Wurzelhaut, Sharpey-Fasern), dem Zement und dem Alveolarknochen zusammen (EICKHOFF, 2005; GORREL, 2006; SALOMON, 2008; LIEBICH, 2010).

Zwischen dem Wurzelzement des Zahnes und dem Alveolarknochen befindet sich der Parodontalspalt (Desmodontalspalt). Durch die lebenslange Zementproduktion verengt dieser sich mit zunehmendem Alter (EICKHOFF, 2005).

Der Zahn ist ausgehend von seinem Wurzelzement über die dreidimensional angeordneten Sharpey-Fasern in der Alveole aufgehängt. Die Sharpey-Fasern bilden die Wurzelhaut (Ligamentum periodontale). Diese Art der Aufhängung ermöglicht eine geringgradige Beweglichkeit des Zahnes in seinem Zahnfach (EICKHOFF, 2005; GORREL, 2006; SALOMON, 2008; LIEBICH, 2010). Man spricht hier auch vom sogenannten desmodontalen Attachment (EICKHOFF, 2005; GORREL, 2006).

Bei den Fasern des Zahnhalteapparates handelt es sich um kollagene Fasern und Oxytalanfasern. Die kollagenen Fasern bestehen überwiegend aus Kollagen Typ I und zu einem geringeren Teil aus Kollagen Typ III (EICKHOFF, 2005).

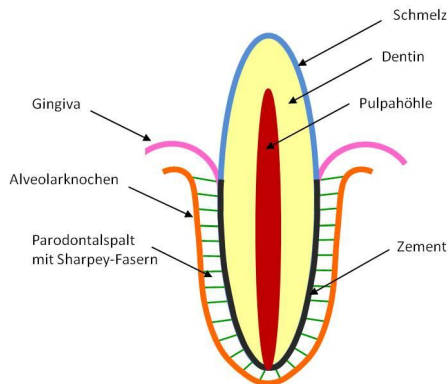


Abbildung 1: Schematische Darstellung eines Zahnes mit seinem parodontalen Halteapparat (Abbildung modifiziert nach EICKHOFF, 2008).

2.2 Parodontitis beim Hund

Der Begriff der Parodontalerkrankung ist eine Sammelbezeichnung für plaqueinduzierte, entzündliche Erkrankungen des Zahnhalteapparates (GORREL, 2006). Die Parodontologie umfasst Erkrankungen des Zahnhalteapparates, also Erkrankungen von Zahnwurzel und Alveole, parodontalem Faserapparat, der Gingiva sowie Beeinträchtigungen der Blut- und Nervenversorgung des Zahnes (FAHRENKRUG, 2007).

Über 80 % der adulten Hunde und Katzen weisen behandlungsbedürftige Erkrankungen im Bereich der Mundhöhle, insbesondere des Zahnhalteapparates, auf (FAHRENKRUG, 2007; NIEMIEC, 2008).

KYLLAR und WITTER (2005) untersuchen insgesamt 408 Hunde auf Lokalisation und Schweregrad dentaler Erkrankungen. Entsprechende Veränderungen lassen sich bei 85,3 % der untersuchten Tiere feststellen. 61,3 % der Tiere weisen Zahnstein und 60,0 % eine parodontale Erkrankung auf. In 33,8 % der Fälle fehlen Zähne, in 5,9 % findet eine unphysiologische Abnutzung der Zähne statt. Kariöse oder tumoröse Veränderungen sowie eine Schmelzhypoplasie treten vereinzelt auf.

In einer postmortalen Studie von HAMP und Mitarbeitern (1984) weisen 83,3 % der untersuchten Hunde Zahnstein auf, bei 63,6 % lässt sich eine Parodontitis marginalis feststellen, kariöse Veränderungen bei 19,8 % und Zahnwurzelresorptionen bei 17,9 %.

Zahnstein ist somit die häufigste Veränderung und die **Parodontitis** die häufigste Erkrankung in der Mundhöhle des Hundes (HAMP et al., 1984; KYLLAR und WITTER, 2005). Vergleicht man Hunde unterschiedlicher Rassen und Größen, so fällt auf, dass kleine Hunderassen, wie beispielsweise der Zwergpudel, häufiger und schwerwiegender von Parodontitis betroffen sind als mittelgroße und große Rassen. Ebenso nimmt die Häufigkeit und Schwere von Parodontalerkrankungen mit zunehmendem Alter zu. Die Zähne des Oberkiefers sind häufiger betroffen als diejenigen des Unterkiefers, kaudale Prämolaren und Molaren wiederum häufiger als die rostraleren Zähne (HAMP et al., 1984; HARVEY et al., 1994; KYLLAR und WITTER, 2005). Die labiale bzw. bukkale Zahnfläche ist schwerwiegender von Parodontitis und Zahnsteinbildung betroffen als die Lingual- bzw. Palatinalfläche, Unterschiede zwischen rechter und linker Kieferhälfte können nicht festgestellt werden. Eine Korrelation zwischen dem Ausmaß des vorhandenen Zahnsteins und dem Schweregrad einer parodontalen Erkrankung kann nicht in allen Fällen festgestellt werden. Der Verlust von Zähnen lässt sich hingegen vor allem an parodontal erkrankten Lokalisationen beobachten. Sowohl an Ober- und Unterkiefer sind die ersten Prämolaren gefolgt von den Schneidezähnen als erste betroffen (KYLLAR und WITTER, 2005).

KYLLAR und WITTER (2005) führen das häufigere Auftreten und den früheren Beginn parodontaler Erkrankungen bei kleinen Hunderassen auf eine genetische Prädisposition und das häufigere Vorliegen einer Malokklusion zurück.

Zudem sind die Auswirkungen des Verlustes von Alveolarknochen aufgrund einer parodontalen Erkrankung bei einem kleineren Kiefer gravierender. Es kommt früher zu einer erhöhten Beweglichkeit der Zähne, zu Furkationsbefall und gesteigerter Plaqueakkumulation (HARVEY et al., 1994).

Eine Parodontitis kann je nach Schweregrad zu Problemen bei der Futteraufnahme und Gewichtsverlust, zu chronischen Schmerzen, Verlust von Zähnen und sogar zu pathologischen Frakturen von Maxilla oder Mandibula führen (HARDHAM et al., 2005). Weitere mögliche Folgen sind oronasale Fistelbildung, endoparodontale Läsionen, Übergreifen von Entzündungsprozessen auf die Augenumgebung oder eine Osteomyelitis (NIEMIEC, 2008). Dennoch bleibt dem Besitzer die Entwicklung einer parodontalen Erkrankung oftmals verborgen, da betroffene Tiere trotz hochgradiger Befunde eine ungestörte Futteraufnahme und ein unauffälliges Allgemeinbefinden zeigen können. Bei diesen Tieren ist Halitosis oft das einzige vom Besitzer bemerkte Symptom bzw. der Vorstellungsgrund beim Tierarzt (WHYTE et al., 2013).

Die Entwicklung einer Parodontalerkrankung ist stets ein polyfaktorielles Geschehen (VAN DYKE und DAVE, 2005; FAHRENKRUG, 2007). Eine wichtige Rolle spielt die bakterielle Besiedlung der Mundhöhle, die Bildung von Plaque und die daraus resultierenden entzündlichen Reaktionen (GORREL, 2006). Ob sich bei einem Individuum jedoch eine parodontale Erkrankung entwickelt, hängt von weiteren Faktoren, beispielsweise bestehenden systemischen Grunderkrankungen, einer genetischen Disposition und der individuellen Immunantwort ab (VAN DYKE und DAVE, 2005).

Zunächst kommt es zur Entstehung einer **Gingivitis**, einer Zahnfleischentzündung. Hieraus kann sich bei ausbleibender Therapie eine **Parodontitis** entwickeln. Durch entzündliche Reaktionen kommt es dann zu einer progressiven Zerstörung des parodontalen Faserapparates und des Alveolarknochens. Der Zahn verliert somit seine Anhaftung am Parodont (Attachmentverlust) und geht letztendlich verloren (GORREL, 2006).

Bei einer **Gingivitis** handelt es sich um eine reversible Entzündung des Zahnfleisches ohne Zerstörung oder Verlust des Ligamentum periodontale. Eine **Parodontitis** hingegen ist eine irreversible entzündliche Erkrankung des gesamten Zahnhalteapparates, bei der es zu dessen Zerstörung kommt (GORREL, 2006).

Eine Gingivitis oder Parodontitis entwickelt sich primär aufgrund der Akkumulation von **Plaque** auf der Zahnoberfläche (GORREL, 2006).

Die Plaquebildung vollzieht sich in zwei aufeinanderfolgenden Schritten: Sobald ein wachsender Zahn Kontakt zum Mundhöhlenmilieu bekommt, wird er von einer amorphen Schicht aus Speichelproteinen und Glykoproteinen überzogen, dem sogenannten **ZahnPELLIKEL**. Der ZahnPELLIKEL verändert die Spannungs- und Ladungszustände auf der Zahnoberfläche. Bestimmte Bakterien (*Streptococcus sanguis*, *Actinomyces viscosus* etc.) können sich nun am ZahnPELLIKEL festsetzen. Sie produzieren extrazelluläre Polysaccharide, die es anderen Bakterien ermöglichen, an der Zahnoberfläche anzuhaften, diese zu besiedeln und sich hier zu vermehren. Bei den nun entstehenden **Plaquebelägen** handelt es sich um einen Biofilm aus Bakterien, bakteriellen Stoffwechselprodukten, Speichelbestandteilen, normalen Abbauprodukten der Mundhöhle und eventuell auch Epithel- und Entzündungszellen. Auf einer plaquefreien Zahnoberfläche kann es innerhalb weniger Minuten zur ersten Plaqueakkumulation kommen. Die Plaquebildung beginnt supragingival und schreitet dann in den gingivalen Sulcus fort (GORREL, 2006).

Solange die Gingiva gesund ist, setzen sich die Plaquebeläge vorwiegend aus aeroben und fakultativ anaeroben Keimen zusammen. Bei einer **Gingivitis** breiten sich die Plaquebeläge jedoch subgingival aus. Der Sauerstoff wird durch die vorhandenen aeroben Keime verstoffwechselt, das Redoxpotential sinkt, so dass sich ein ideales Milieu für Anaerobier entwickelt. Die Zahl der aeroben Bakterien bleibt zwar konstant, die Menge an Anaerobiern nimmt jedoch zu, so dass diese bei einer Parodontitis überwiegen (GORREL, 2006).

Weiterhin unterscheidet man zwei Theorien zur plaqueinduzierten Parodontitisentwicklung: die *unspezifische* und die *spezifische Plaquehypothese*. Da bei vielen Parodontitiden die Plaque- und somit die Bakterienbelastung mit den pathologischen Veränderungen korreliert, geht die *unspezifische Plaquehypothese* von einem direkten Zusammenhang aus. Da aber nicht jede Gingivitis in eine Parodontitis mündet, wurde später zudem die *spezifische Plaquehypothese* aufgestellt, die davon ausgeht, dass sich eine Parodontitis durch spezifische Pathogene entwickelt (EICKHOFF, 2005; GORREL, 2006).

HARDHAM und Mitarbeiter (2005) identifizieren *Porphyromonas salivosa*, *Porphyromonas denticanis* und *Porphyromonas gulae* als die wichtigsten parodontopathogenen Keime des Hundes. Insgesamt isolieren sie 26 Spezies sogenannter „schwarzpigmentierter anaerober Bakterien“ (Black-Pigmented Anaerobic Bacteria, BPAB) aus den parodontalen Taschen von an Parodontitis erkrankten Hunden. Neben weiteren *Porphyromonas ssp.* finden sich *Bacteroides denticanium*, *Tanerella forsythensis*, *Peptostreptococcus ssp.* und andere.

Porphyromonas gingivalis, der wichtigste pathogene Keim bei der humanen Parodontitis, findet sich unter den kaninen Isolaten hingegen nicht.

Die Mundhöhle des Hundes ist, ebenso wie die des Menschen, jedoch auch physiologischerweise von einer Vielzahl von Mikroorganismen besiedelt. SENHORINO und Mitarbeiter (2012) zeigen, dass die subgingivalen Plaquebeläge sowohl von parodontal erkrankten als auch von parodontal gesunden Hunden von *Porphyromonas gulae*, *Fusobacterium nucleatum* und *Fusobacterium canifilium* besiedelt sind. *Porphyromonas macacae* kann nur bei erkrankten Tieren isoliert werden. Bei den erkrankten Tieren kommt zudem *Porphyromonas gulae* häufiger vor, ansonsten finden sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen erkrankten und gesunden Tieren. Antimikrobielle Resistenzen finden sich nur vereinzelt.

STURGEON und Mitarbeiter (2013) führen an sechs dental und parodontal gesunden Hunden unterschiedlicher Rasse und Herkunft mittels „High-Throughput“-Pyrosequenzierung der 16S rRNA eine Untersuchung zum physiologischen oralen Mikrobiom des Hundes durch. Insgesamt können sie 181 Genera nachweisen. Bei 39,2 % der untersuchten Sequenzen handelt es sich um *Porphyromonas*, ebenfalls häufig kommen *Fusobacterium* (4,5 %), *Capnocytophaga* (3,8 %), *Derrxia* (3,7 %), *Moraxella* (3,3 %) und *Bergeyella* (2,7 %) vor. Anders als in den beiden zuvor genannten Studien können STURGEON und Mitarbeiter (2013) bei fünf von sechs Hunden *Porphyromonas gingivalis* nachweisen. *Treponema spp.* und *Actinomyces viscosus*, die beide ebenfalls mit parodontalen Erkrankungen assoziiert sind, finden sich bei fünf bzw. zwei Hunden.

Die Lipopolysaccharid-Struktur (LPS) von *Porphyromonas gingivalis* beeinflusst in humanen gingivalen Fibroblasten die Expression von MMP-3 (HERATH et al., 2013). In humanen Monozyten fördert *Porphyromonas gingivalis* die Aktivierung und Expression von MMP-9, was wiederum zur gesteigerten Migration der Monozyten führt (ZHOU et al., 2012).

Bei **Zahnstein** handelt es sich um eine Ansammlung von mineralisierten Plaquebelägen, Futterbestandteilen, Epithelzellen und Leukozyten (EICKHOFF, 2005). Die Oberkiefermolaren, der vierte Prämolare (P4) und die Canini sind häufig die zuerst und am stärksten betroffenen Zähne (HAMP et al., 1984). Die oralen Selbstreinigungsmechanismen können an der Bukkalfläche der Oberkieferzähne nur eingeschränkt wirken und zudem sezerniert die Glandula parotis in das Vestibulum des Oberkiefers (EICKHOFF, 2005).

Der Speichel ist beim Karnivoren im Vergleich zum Menschen alkalischer, so dass es schneller zur Zahnsteinbildung kommt (LEGEROS und SHANNON, 1979; EICKHOFF, 2005;

HARVEY, 2005). Bei einem pH-Wert von 7 bis 8 sinkt das Löslichkeitsprodukt, so dass an der Zahnkrone Kalziumphosphat, Kalziumkarbonat und Magnesiumphosphat ausfallen. Es kommt zur Mineralisation der Plaquebeläge (EICKHOFF, 2005). Beim Hund überwiegt Kalziumkarbonat (LEGEROS und SHANNON, 1979; EICKHOFF, 2005), bei der Katze Karbonat-Hydroxylapatit (EICKHOFF, 2005). Wie HAMP und Mitarbeiter (1984) zeigen, findet sich an 83,3 % der von ihnen untersuchten Hundegebisse Zahnstein. Häufig handelt es sich nur um geringe Mengen, die jedoch mit steigendem Alter der Tiere zunehmen. In fortgeschrittenen Fällen können auch die Zahnwurzeln fast vollständig von Zahnstein bedeckt sein.

Auf der subgingivalen Wurzeloberfläche entstehen aus Zahnstein und Sulkusflüssigkeit zudem extrem harte **Konkremente** (EICKHOFF, 2005; FAHRENKRUG, 2007). Zahnstein behindert das gingivale Attachment, Konkremente die Anheftung der desmodontalen Fasern (EICKHOFF, 2005).

Zahnstein spielt bei der Entstehung einer Parodontalerkrankung jedoch nur eine sekundäre Rolle. Durch die raue Oberfläche wird die Anhaftung weiterer bakteriell besiedelter Plaquebeläge begünstigt, allein durch seine Rauigkeit wird aber keine Gingivitis oder Parodontitis ausgelöst (WAERHAUG, 1956; EICKHOFF, 2005; GORREL, 2006).

Bei der **Plaque- und Zahnsteinentstehung** spielen hygienische und ernährungsbedingte Probleme eine wichtige Rolle. Durch Ernährung mit Fertigfutter hat der Haushund in der Regel unzureichende Gelegenheit, die Zähne von Nahrungsresten zu befreien. Durch Selbstreinigungsmechanismen allein kann die Anhaftung von Plaque und Zahnstein nicht verhindert werden. Selbstreinigungsmechanismen sind Trinkwasser, Speichelfluss, Zungenreiben und Wangenreiben. Im Zahnsulkus wirkt die reinigungs- und immunaktive Sulkusflüssigkeit. Beim Wildkaniden sind durch die relativ langen Abstände zwischen den Beutefängen und den kurzen Zeiträumen der Nahrungsaufnahme die Phasen der Selbstreinigung relativ lang. Der Haushund wird jedoch regelmäßig gefüttert, ständig kommt es zum Nachschub plaquefördernder Substanzen, die Phasen der Selbstreinigung sind relativ kurz (FAHRENKRUG, 2007).

Zahnfehlstellungen und brachygnathe Schädelformen, die zur Bildung enger Nischen zwischen den Zähnen führen und raue Oberflächen durch Schmelzbeschädigungen fördern ebenfalls die Ablagerung von Plaque und Zahnstein (FAHRENKRUG, 2007).

In der Humanmedizin gibt es ferner Untersuchungen, die eine genetische Disposition für die Entwicklung einer Parodontitis belegen (NARES, 2003; KINANE et al., 2005; YOSHIE et al., 2007). In der Veterinärmedizin gibt es zwar bislang noch keine entsprechenden

Untersuchungen, doch aufgrund der Ähnlichkeiten zwischen der humanen und der kaninen Parodontitis liegt die Vermutung nahe, dass es auch hier eine genetische Komponente gibt (ALBUQUERQUE et al., 2012).

Prophylaxemaßnahmen gegenüber Plaque- und Zahnsteinbildung sowie der Entwicklung bzw. dem Voranschreiten einer parodontalen Erkrankung sind regelmäßiges Reinigen der Zähne sowie Futtermittel, die den Kauvorgang und somit die mechanische Reinigung unterstützen (LOGAN, 2006; CAPÍK, 2010).

Bei bereits **parodontal erkrankten** Tieren ist eine Zahnsanierung in Narkose angezeigt. Hierbei werden Plaquebeläge und Zahnstein mittels Ultraschallscaler entfernt (Scaling). Besonders dicke supragingivale Beläge können manuell mittels Zahnsteinentfernungszange entfernt werden, subgingivale Beläge mithilfe einer subgingivalen Kurette (Deep Scaling). Um eine Neubildung von Zahnbelägen zu verzögern, müssen freiliegende Wurzelflächen geglättet (Root Planning) sowie Zahnkrone und Zahnhals poliert werden. Pseudotaschen durch entzündlich-ödematöse oder hyperplastische Gingiva können entfernt werden (Gingivektomie, Gingivoplastik). Bei bereits vorhandener Gingivaretraktion und horizontalem Knochenabbau kann eine Lappenplastik durchgeführt werden. Ein sehr kosten- und zeitaufwändiges Verfahren ist die gelenkte Geweberegeneration, bei der mithilfe körpereigener Enzyme und Zytokine der Knochenaufbau und die Regeneration von Parodontalfasern angeregt werden (STAUDACHER, 2011). Bei einer hochgradigen Parodontitis mit irreversiblen Befunden müssen nicht erhaltbare Zähne extrahiert werden. Die nicht-chirurgische und chirurgische Therapie von Parodontalerkrankungen kann zudem unterstützt werden durch Chelatbildner (z.B. Natriumhexametaphosphat), das lokal wirksame Antiseptikum Chlorhexidin, Plaque-Aggregationshemmer, lokale und systemische Antibiose, nicht-steroidale Antiphlogistika, antibakterielle patientenspezifische Vakzine oder Knochenersatzmaterialien (STAUDACHER, 2011).

JOHNSTON und Mitarbeiter (2011) untersuchen den Effekt eines 2 %-igen Clindamycinhydrochloridgels, dass in die parodontalen Taschen von an Parodontitis erkrankten Hunden appliziert wird. Es kann gezeigt werden, dass die Kombination einer professionellen Zahnreinigung und einer nicht-chirurgischen Parodontalbehandlung mit der Applikation des Clindamycinhydrochloridgels zu einer Verbesserung des Gingivitisindex und zur Verringerung der parodontalen Taschentiefe führt.

PETERS und Mitarbeiter (2012) untersuchen die Auswirkungen einer Immunisierung von Hunden mit natürlicher und rekombinanter Lysindecaboxylase (LDC), einem bakteriellen Stoffwechselprodukt, das die gingivale epitheliale Barriere schädigt. Die subkutane Immuni-

sierung führt zu einem starken IgG-Anstieg im Serum, die intranasale Immunisierung zu einem schwachen Anstieg von IgA. Im Vergleich zu einer Kontrollgruppe zeigen die immunisierten Tiere eine geringere Gingivitisentwicklung. Die Autoren sehen die Immunisierung mit rekombinanter LCD somit als vielversprechenden Ansatz zur Gingivitisprophylaxe an.

Zur Früherkennung von parodontalen Erkrankungen haben MARRETTA und Mitarbeiter (2012) eine Pilotstudie zur Messung von organischen Schwefelverbindungen mittels Teststreifen an Hunden durchgeführt. Die ersten Ergebnisse lassen dieses Verfahren als objektives, sowie am wachen Tier einfach und schnell durchführbares Screeningverfahren erscheinen, anhand dessen Ergebnis die weitere Diagnostik und Therapie geplant werden kann.

2.2.1 Pathomorphologische Veränderungen bei der Gingivitis und Parodontitis

Eine **Gingivitis** ist gekennzeichnet durch Ödematisierung, Rötung, Schmerzhaftigkeit und erhöhte Blutungsneigung des Zahnfleisches (EICKHOFF, 2005). Durch die entzündliche Schwellung des Zahnfleischrandes wird der physiologische Sulcus gingivalis zur pathologischen Pseudozahnfleischtasche (FAHRENKRUG, 2007). Eine Pseudozahnfleischtasche ist eine durch Gingivahyperplasie oder –ödem verursachte supraalveoläre Tasche. Die Sondierungstiefe ist zwar erhöht, es liegen jedoch weder Attachmentverlust noch alveoläre Osteolysen vor (EICKHOFF, 2005).

In der Pseudotasche kommt es zu einem Teufelskreis aus verminderter Selbstreinigungsfunktion, verstärkter Retention von Nahrungsresten, Plaqueansammlung, Unterhaltung und Exazerbation der Entzündung. Bei einem gesunden Organismus kann das Immunsystem der Mundhöhle die Gingivitis lokal begrenzen und zunächst die Entwicklung einer destruktiven Parodontitis verhindern. Im Alter oder bei Allgemeinerkrankungen kann aber eine latente Gingivitis zu einer manifesten Gingivitis werden. Innerhalb von Tagen oder sogar nur Stunden kann es dann zur progressiven Zerstörung des Zahnhalteapparates kommen (FAHRENKRUG, 2007).

Die **Parodontitis** entsteht aus der chronischen Gingivitis. Im Rahmen der Zerstörung des Zahnhalteapparates kommt es zum Verlust des desmodontalen Attachments. Die parodontalen Fasern lösen sich von der Zahnoberfläche, es kommt zu alveolären Osteolysen. Die Pseudozahnfleischtasche wird somit zur pathologisch vertieften, echten Zahnfleischtasche. In den Zahnfleischtaschen bilden sich Granulationsgewebe und Konkremente. Die entzündliche Destruktion des Zahnhalteapparates schreitet weiter fort. Häufig kommt es zum Sekretstau mit parodontaler Abszedierung. Im weiteren Verlauf folgen Zahnlockerung und -ausfall (FAHRENKRUG, 2007). Klinisch diagnostiziert wird eine echte parodontale Tasche

durch Sondierung und radiologischen Nachweis des Knochenabbaus. Eine intraalveoläre Knochentasche kann ein- bis vierwandig sein (EICKHOFF, 2005).

Die **Parodontitis** ist eine zyklisch verlaufende Erkrankung. Aktive Erkrankungsschübe mit Gewebszerstörung und inaktive Phasen folgen wiederkehrend aufeinander. In den inaktiven Phasen schreitet die Gewebszerstörung zwar nicht weiter voran, die Entzündung im gingivalen Gewebe persistiert jedoch, es kommt zu keinem Heilungsprozess. Diese Ruheperiode kann längere Zeit andauern (GORREL, 2006). In den aktiven Erkrankungsphasen vermehren sich vor allem die parodontopathogenen, gram-negativen Anaerobier (EICKHOFF, 2005).

2.2.2 Histologische Anatomie der erkrankten Gingiva

Die Zellpopulation der gesunden Gingiva besteht zu 65 % aus Fibroblasten. Zudem findet sich eine geringe Anzahl von neutrophilen Granulozyten und mononukleären Zellen (ZAPPA, 1995).

Bei der Pathogenese der Gingivitis wird in die **initiale Läsion**, die **Frühläsion** und die **etablierte Läsion** unterschieden, welche in eine **Parodontitis** übergehen kann (ZAPPA, 1995; MORGENROTH et al., 1996).

Bei der initialen Läsion handelt es sich um eine akute Entzündungsreaktion, die sich innerhalb von 2-4 Tagen als Antwort auf die Ansammlung von Plaque entwickelt. Es kommt zu einer Vaskulitis und zum verstärkten Einwandern von neutrophilen Granulozyten in das Saumepithel und den Sulcus gingivalis. Die Zerstörung von Kollagenfasern beginnt, das entzündliche Infiltrat nimmt etwa 10 % des subepithelialen Bindegewebes ein. Nach 4-7 Tagen entwickelt sich aus der initialen Läsion die Frühläsion. Es kommt zum verstärkten Verlust von Kollagenfasern. Das entzündliche Infiltrat wird dominiert von Lymphozyten, enthält aber auch neutrophile Granulozyten, Makrophagen, Plasmazellen und Mastzellen. Aus der Frühläsion geht, nach variabler Dauer, die etablierte Läsion hervor. Das Entzündungszellinfiltrat wird nun durch Plasmazellen dominiert, welche sich perivaskulär und in der tieferen Lamina propria ansammeln. Es kommt zum weiteren Verlust von Kollagenfasern. Der Übergang zu einer Parodontitis ist gekennzeichnet durch das Übergreifen der Prozesse auf den Alveolarknochen. Das Entzündungszellinfiltrat wird weiterhin durch Plasmazellen dominiert (ZAPPA, 1995; MORGENROTH et al., 1996).

2.2.3 Auswirkungen einer Parodontitis auf die allgemeine Gesundheit

In der Humanmedizin gibt es zahlreiche Untersuchungen, die einen Zusammenhang zwischen schlechter Mundhygiene und systemischen Erkrankungen, wie z.B. kardiovaskulären Erkrankungen, Diabetes mellitus, Frühgeburten, Osteoporose oder respiratorischen Erkrankungen herstellen. Dieser Zusammenhang beruht zum einen auf gemeinsamen Risikofaktoren, zum anderen aber auch auf direkten Kausalzusammenhängen (CULLINAN et al., 2009). Ausgehend von der Mundhöhle kann es zu transienten Bakteriämien kommen. In den meisten Fällen verlaufen diese symptomlos oder mit subfebrilen Temperaturen. Es kann aber auch zur Absiedlung von Mikroorganismen in verschiedenen Organen kommen und schwerwiegende Erkrankungen, wie Myokarditiden oder Endokarditiden, zur Folge haben. Besonders gefährdet sind Patienten mit bereits vorgeschädigten oder künstlichen Herzklappen, an denen sich Mikroorganismen bevorzugt absiedeln (THODEN VAN VELZEN et al., 1984; VAN WINKELHOFF und SLOTS, 1999).

PAVLICA und Mitarbeiter (2008) zeigen in einer postmortalen Studie an 44 Zwerg- und Toy-Pudeln einen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß einer parodontalen Erkrankung und der Wahrscheinlichkeit pathologischer Veränderungen der Mitralklappe, der Leber und der Nieren. GLICKMAN und Mitarbeiter (2009) können zeigen, dass es beim Hund einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Schweregrad einer Parodontitis und dem Risiko, eine kardiovaskuläre Erkrankung, beispielsweise eine Endokarditis oder eine Kardiomyopathie, zu entwickeln, gibt.

Im Gegensatz dazu können PEDDLE und Mitarbeiter (2009) jedoch bei 76 Hunden mit nachgewiesener bakterieller Endokarditis keinen Zusammenhang mit dem Vorliegen einer parodontalen Erkrankung oder einem zuvor durchgeführten chirurgischen Eingriff in der Mundhöhle feststellen.

RAWLINSON und Mitarbeiter (2011) stellen fest, dass ein zunehmender Schweregrad einer parodontalen Erkrankung beim Hund mit Veränderungen von systemischen Entzündungsmarkern und den Nierenparametern einhergeht. Beispielsweise kommt es, abhängig vom Schweregrad einer Parodontitis, nach Therapie zu einem Rückgang der Konzentration des C-reaktiven Proteins.

2.2.4 Prognose

Bei einer **Gingivitis** handelt es sich um eine Entzündung des Zahnfleischrandes ohne Gewebserstörung. Bei entsprechender Therapie kann es zur vollständigen Ausheilung kommen. Bei der **Parodontitis** kommt es hingegen zu einer progressiven Zerstörung des Zahnhalteapparates. Das weitere Fortschreiten einer Parodontitis kann durch adäquate Therapie zwar verhindert werden, der bereits bestehende Schaden ist jedoch nicht reversibel (EICKHOFF, 2005; GORREL, 2006; FAHRENKRUG, 2007).

2.3 Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) und ihre Inhibitoren

Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) werden auch Matrixine genannt. Es handelt sich hierbei um Proteinase, die beim Abbau der extrazellulären Matrix eine wichtige Rolle spielen (STERNLICHT und WERB, 2001; VISSE und NAGASE, 2003).

Die Expression der MMPs wird auf Ebene der Transkription, durch Aktivierung ihrer pro-Formen und durch endogene Inhibitoren reguliert (SBARDELLA et al., 2012). Hierbei spielen Wachstumsfaktoren, Hormone, Zytokine, Interaktionen zwischen Zelle und extrazellulärer Matrix bzw. zwischen Zellen untereinander eine Rolle (NAGASE und WOESSNER, 1999; BREW et al., 2000).

Die MMPs üben ihre enzymatische Funktion an der Zelloberfläche oder im Extrazellulärraum aus. Die wichtigsten endogenen Inhibitoren sind die sogenannten „Tissue Inhibitors of Metalloproteinases“ (TIMPs) und α_2 -Makroglobulin. Die TIMPs sind die wichtigsten Inhibitoren im Gewebe, α_2 -Makroglobulin und andere Inhibitoren erfüllen ihre Funktion plasmatisch und in Gewebsflüssigkeiten (BREW et al., 2000; BAKER et al., 2002; VISSE und NAGASE, 2003).

Sowohl die MMPs als auch die TIMPs können von einer Vielzahl an Zellen produziert werden. Unter anderem spielen Epithel- und Endothelzellen, Fibroblasten, Chondrozyten, Osteoklasten und Leukozyten eine Rolle (BOSMAN und STAMENKOVIC, 2003; ALLDINGER, 2009).

2.3.1 Familie der Matrix-Metalloproteinasen

Im Jahr 1962 entdeckten GROSS und LAPIÈRE ein kollagenolytisches Enzym, das bei der Involution des Kaulquappenschwanzes eine Rolle spielt. Dieses Enzym ist das erste Mitglied der Familie der Metalloproteinasen, das entdeckt wurde (GROSS und LAPIÈRE, 1962; STERNLICHT und WERB, 2001; SOMERVILLE et al., 2003). Die Zahl der bislang be-

kannten Matrix-Metalloproteinasen wird - je nach Quelle - mit 23 bis 26 angegeben, wobei nicht alle bekannten MMPs beim auch Menschen vorkommen (IYER et al., 2012; SHI et al., 2012; SHUMANN MOSS et al., 2012). SBARDELLA und Mitarbeiter (2012) geben die Zahl der beim Menschen vorkommenden MMPs mit mindestens 24 an. Daneben kommen auch bei Nicht-Vertebraten, beispielsweise bei *Drosophila*, bei *Caenorhabditis elegans* oder dem Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*) zahlreiche MMPs vor (WADA et al., 1998; MAIDMENT et al., 1999; LLANO et al., 2000; STERNLICHT und WERB, 2001).

2.3.2 Einteilung der Matrix-Metalloproteinasen

Bei den MMPs handelt es sich um Endopeptidasen, das heißt, sie spalten ihre Substrate an nicht-randständigen Peptidbindungen. Die wichtigsten Endopeptidasen sind die Metalloproteinasen, die Serinproteinasen, die Cysteinproteinasen und die Aspartylproteinasen. Diese Klassifikation erfolgt auf Grundlage ihrer katalytischen Mechanismen und ihrer Inhibitoren. Aufgrund von Sequenzunterschieden werden die Metalloproteinasen in fünf Superfamilien unterteilt (STERNLICHT und WERB, 2001). Eine dieser Superfamilien ist die Metzincin-Superfamilie. Ihre Mitglieder zeichnen sich durch ein hochkonserviertes Motiv aus drei Histidinresten aus, die im katalytischen Zentrum ein Zinkion binden, sowie eine konservierte Methioninschleife unterhalb des katalytischen Zentrums (STÖCKER et al., 1995; STERNLICHT und WERB, 2001). Das Zinkbindemotiv der Metzincine lautet HEBXHXBGBXHZ. H steht für Histidin, E für Glutaminsäure, G für Glycin, B ist ein hydrophober Rest, X ein variabler Rest, Z eine familienspezifische Aminosäure. Basierend auf der familienspezifischen Aminosäure Z werden die Metzincine in vier Multigenfamilien unterteilt: Die Matrix-Metalloproteinasen, die Serralysine, die Astacine und Adamalysine (STÖCKER et al., 1995; STERNLICHT und WERB, 2001).

RAWLINGS und Mitarbeiter (2010) untergliedern die Familie M10 des Metalloproteinasen-Clans (MA) in die Subfamilien der MMPs (M10A), der Serralysine (M10B) und der Fragilysine (M10C). In enger Verwandtschaft zu den MMPs steht die Familie M12, die sich wiederum in die Subfamilien der Astacine (M12A) und Adamalysine (M12B) unterteilt. Grundlage dieser Verwandtschaft ist die bei den Enzymen dieser Familie vorkommende „Metzincin-Faltung“ eine als „met-turn“ bezeichnete, konservierte Proteinstruktur (BODE et al., 1993; WOESSNER, 2002; ALLDINGER, 2009).

Zunächst wurden die Matrix-Metalloproteinasen aufgrund ihrer Substratspezifität eingeteilt. Tabelle 1 zeigt eine Auswahl an MMPs, die in Kollagenasen, Gelatinasen, Stromelysine und Matrilysine unterteilt werden können. Dazu kommen die membranverankerten und weitere, nicht in dieses Schema passende MMPs.

Tabelle 1: Einteilung einer Auswahl an Matrix-Metalloproteinasen aufgrund ihrer Substratspezifität (nach VISSE und NAGASE, 2003)

| | |
|---------------------|------------------------|
| Kollagenasen | MMP-1, -8, -13 und -18 |
| Gelatinasen | MMP-2 und -9 |
| Stromelysine | MMP-3, -10 und -11 |
| Matrilysine | MMP-7 und -26 |

Diese relativ einfache Einteilung wird auch heute noch häufig verwendet (z.B. bei SBARDELLA et al., 2012).

Tatsächlich ist es jedoch so, dass sich die Substratspezifitäten der verschiedenen MMPs überlappen. Die aktuelle Klassifikation der MMPs in acht Gruppen orientiert sich an ihrem Struktur- und Domänenaufbau (ALLDINGER, 2009; SBARDELLA et al., 2012). Grundsätzlich unterscheidet man zwischen den in den Extrazellularraum sezernierten MMPs (Gruppe 1-5) und den an der Zellmembran verankerten MMPs (Gruppe 6-8; ALLDINGER, 2009).

Tabelle 2 zeigt die Einteilung der bislang bei Vertebraten bekannten Matrix-Metalloproteinasen in Strukturklassen sowie eine Auswahl ihrer Synonyme und Substrate.

Tabelle 2: Einteilung der bislang bei Vertebraten bekannten Matrix-Metalloproteinasen in Strukturklassen sowie Nennung einer Auswahl ihrer Synonyme und Substrate (nach ALLDINGER, 2009)

| MMP | Synonym (Auswahl) | Extrazelluläre-Matrix-Substrate (Auswahl) |
|--|---|--|
| 1) MMPs mit einfacher Hämopexin-Domäne: | | |
| MMP-1 | Kollagenase-1, Interstitielle Kollagenase | Kollagen Typ 1, 2, 3, 7, 8, 10, 11, Gelatine, Fibronektin, basisches Myelinprotein (myelin basic protein, MBP), Vitronektin, Laminin, Aggrekan |
| MMP-3 | Stromelysin-1, Transin-1 | Kollagen Typ 2, 3, 4, 5, 9, MBP, Gelatine, Elastin, Fibronektin, Vitronektin, Laminin |
| MMP-8 | Kollagenase-2, Neutrophile Kollagenase | Kollagen Typ 1, 2, 3, Aggrekan |
| MMP-10 | Stromelysin-2, Transin-2 | Kollagen Typ 3, 4, 5, Gelatine, Elastin, Fibronektin, Aggrekan |
| MMP-12 | Metalloelastase, Makrophagen-Elastase | Kollagen Typ 1, 4, MBP, Gelatine, Elastin, Fibronektin |
| MMP-13 | Kollagenase-3 | Kollagen Typ 1, 2, 3, 4, 5, 9, 10, 11, Gelatine, Fibronektin, Aggrekan, Perlekan, Tenascin |
| MMP-18 | Kollagenase-4 (Xenopus) | Kollagen Typ 1 (Ratte) |
| MMP-19 | RASI-1 (rheumatoid arthritis synovial inflammation) | Kollagen Typ 1, 4, Gelatine, Laminin, Entaktin, Aggrekan |
| MMP-20 | Enamelysin | Amelogenin, Aggrekan |
| MMP-22 | CMMP (Chicken MMP, Gallus) | Casein, Gelatine |
| MMP-27 | | Nicht bekannt |
| 2) Gelatine-bindende MMPs: | | |
| MMP-2 | Gelatinase A, 72-kDa Gelatinase, 72-kDa Typ 4 Kollagenase | Kollagen Typ 1, 3, 4, 5, 7, 10, 11, 14, Gelatine, Fibronektin, Elastin, Entaktin, Laminin, Tenascin, MBP |
| MMP-9 | Gelatinase B, 92-kDa Gelatinase, 92-kDa Typ 4 Kollagenase | Kollagen Typ 4, 5, 7, 10, 11, 14, Gelatine, Elastin, MBP, Vitronektin, Laminin, Aggrekan, Versikan |
| 3) MMPs mit minimaler Domäne: | | |
| MMP-7 | Matrilysin, Matrin, PUMP 1 (putative metalloproteinase) | Kollagen Typ 1, 2, 3, 4, 5, Gelatine, MBP, Elastin, Fibronektin, Vitronektin, Laminin |
| MMP-26 | Matrilysin-2, Endometase | Kollagen Typ 4, Gelatine, Fibronektin, Vitronektin |

| Fortsetzung Tabelle 2: | | |
|---|------------------------------|--|
| MMP | Synonym (Auswahl) | Extrazelluläre-Matrix-Substrate (Auswahl) |
| 4) Furin-aktivierte, sezernierte MMPs: | | |
| MMP-11 | Stromelysin-3 | Gelatine, Fibronectin, Laminin |
| MMP-28 | Epilysin, Neurolysin | Casein |
| 5) MMPs mit Vitronectin-ähnlichen Einschüben | | |
| MMP-21 | Homolog des Xenopus XMMP | Nicht bekannt |
| 6) Typ 1-transmembrane MMPs: | | |
| MMP-14 | MT1-MMP, MT-MMP-1 | Kollagen Typ 1, 2, 3, Gelatine, Fibronectin, Tenascin, Laminin |
| MMP-15 | MT-2-MMP, MT-MMP-2 | Fibronectin, Tenascin, Entaktin, Laminin, Aggrekan |
| MMP-16 | MT-3-MMP, MT-MMP-3 | Kollagen Typ 1, 3, Gelatine, Fibronectin, Vitronectin |
| MMP-24 | MT-5-MMP, MT-MMP-5 | Fibronectin, Gelatine, Chondroitin-Sulfat-Proteoglykan (CSP) |
| 7) Glycosyl-Phosphatidyl-Inositol (GPI)-verankerte MMPs: | | |
| MMP-17 | MT-4-MMP, MT-MMP-4 | Gelatine |
| MMP-25 | MT-6-MMP, MT-MMP-6 | Kollagen Typ 4, Gelatine, Fibronectin, CSP |
| 8) Typ 2-transmembrane MMPs: | | |
| MMP-23 | cysteine array –MMP (CA-MMP) | Gelatine |

In ihrer Gesamtheit können die Matrix-Metalloproteinasen nahezu alle Proteine der extrazellulären Matrix spalten. Die enzymatische Aktivität der MMPs beschränkt sich aber nicht auf die extrazelluläre Matrix. Zu ihren Substraten gehören zahlreiche weitere biologisch bedeutsame Moleküle (STERNLICHT und WERB, 2001; SOMERVILLE et al., 2003; RODRÍGUEZ et al., 2010; SBARDELLA et al., 2012). So beeinflussen Matrix-Metalloproteinasen die Zellproliferation, –migration und Apoptose, sie spielen eine Rolle bei Wachstumsvorgängen und der Embryogenese, bei der Angiogenese, bei immunologischen und entzündlichen Prozessen, sowie dem Wachstum und der Metastasierung von Tumoren. Andere Proteasen beeinflussen Matrix-Metalloproteinasen entweder direkt oder durch Inhibition ihrer Inhibitoren (RODRÍGUEZ et al., 2010; SBARDELLA et al., 2012). Bereits aktivierte MMPs sind zudem an der Aktivierung von pro-MMPs beteiligt (SOMERVILLE et al., 2003; VISSE und NAGASE, 2003). Zahlreiche Wachstumsfaktoren, beispielsweise TGF- β (Transforming Growth Factor- β), FGF-1 (Fibroblast Growth Factor-1), IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1), TNF- α (Tumornekrosefaktor- α) oder HB-EGF (Heparin-Binding Epidermal Growth Factor-like Growth Factor) können von Bestandteilen der extrazellulären Matrix direkt oder via Wachstumsfaktor-Bindeproteinen gebunden werden. Erst die MMP-vermittelte Spaltung dieser Bindung aktiviert die jeweiligen Wachstumsfaktoren (FOWLKES et al., 1994; FOWLKES et al., 1995; WHITELOCK et al., 1996; IMAI et al., 1997; MANES et al., 1997; SOMERVILLE et al., 2003). Andererseits können MMPs Wachstumsfaktoren durch proteolytische Spaltung auch inaktivieren. Dies betrifft beispielsweise Stromal Cell-derived Factor-1, SDF-1 (MCQUIBBAN et al., 2001; SOMERVILLE et al., 2003).

2.3.3 Struktureller Aufbau der Matrix-Metalloproteinasen

Die Mitglieder der Familie der Matrix-Metalloproteinasen zeichnen sich durch eine konservierte Molekülstruktur aus. Die meisten MMPs werden in den Extrazellularraum sezerniert, die „Membrane-Type MMPs“ (MT-MMPs) sind jedoch in der Zellmembran verankert (SOMERVILLE et al., 2003; VISSE und NAGASE, 2003).

Alle MMPs besitzen eine N-terminale Signalsequenz (Prä-Domäne), eine Pro-Domäne und eine katalytische Domäne. Diese drei Domänen bilden die minimale MMP-Struktur. Mit Ausnahme der MMPs mit minimaler Domäne (Gruppe III) kommen weitere Strukturen, wie die „hinge-Region“, die Hämopekin-ähnliche Domäne, die Furin-Spaltungsstelle, Vitronektin-ähnliche Einschübe und bei den „Membrane-Type MMPs“ Strukturen zur Verankerung in der Zellmembran hinzu (NAGASE und WOESSNER, 1999; STERNLICHT und WERB, 2001; VISSE und NAGASE, 2003; ALLDINGER, 2009; TALLANT et al., 2010).

Matrix-Metalloproteinasen werden als Prä-Pro-Enzyme synthetisiert und die meisten von ihnen als inaktive Pro-Enzyme sezerniert (NAGASE und WOESSNER, 1999; STERNLICHT und WERB, 2001). Die Prä-Domäne ist eine N-terminale Signalsequenz, die der Translokation zum endoplasmatischen Retikulum dient und noch intrazellulär abgespalten wird (STERNLICHT und WERB, 2001).

Auf die Prä-Domäne folgt die Pro-Domäne, ein Pro-Peptid aus ca. 80 Aminosäuren, das die Pro-MMPs von den aktiven MMPs unterscheidet. Das Cystein der Pro-Domäne bindet das Zink-Ion der katalytischen Domäne als vierter Ligand, erst der „Cysteine-switch“ führt zur Aktivierung des Proenzyms (VAN WART und BIRKEDAL-HANSEN, 1990; NAGASE und WOESSNER, 1999). Das „Cysteine-switch“-Motiv aller MMPs besitzt die konservierte Sequenz PRGXPD. Eine Ausnahme bildet lediglich MMP-23. Ihr fehlt das „Cysteine-switch“-Motiv (NAGASE und WOESSNER, 1999; VELASCO et al., 1999; VISSE und NAGASE, 2003).

Nun folgt die katalytische Domäne, die aus ca. 170 Aminosäuren besteht und das Zinkbindemotiv sowie die Methioninschleife enthält (BODE et al., 1993; NAGASE und WOESSNER, 1999). Ferner enthält die katalytische Domäne ein strukturelles Zink-Ion und zwei bis drei Kalzium-Ionen, welche für die Stabilität des Moleküls und die Expression der enzymatischen Aktivität nötig sind (NAGASE und WOESSNER, 1999). Die katalytische Domäne ist für die Substratspezifität der MMPs verantwortlich (STERNLICHT und WERB, 2001; OVERALL, 2002).

MMP-2 und -9 besitzen in ihrer katalytischen Domäne zusätzlich drei Fibronektin Typ 2 – ähnliche Domänen. Diese sind verantwortlich für deren elastolytische Aktivität und spielen eine wichtige Rolle bei der Bindung und Spaltung von Gelatine durch MMP-2 und -9 bzw. von Kollagen Typ IV durch MMP-2 (MURPHY et al., 1994; SHIPLEY et al., 1996; VISSE und NAGASE, 2003; TALLANT et al., 2010).

Auf die katalytische Domäne folgen am C-terminalen Ende die sogenannte „hinge“-Region sowie die Hämoexin-ähnliche Domäne. Die „hinge“-Region und die Hämoexin-ähnliche Domäne fehlen bei den MMPs mit minimaler Domäne MMP-7 und -26 (STERNLICHT und WERB, 2001; ALLDINGER, 2009).

Die „hinge“-Region der einzelnen MMPs ist unterschiedlich lang, beeinflusst deren Substratspezifität sowie die Stabilität der MMPs gegenüber Autoproteolyse (STERNLICHT und WERB, 2001; ALLDINGER, 2009).

Die Hämoexin-ähnliche Domäne besteht aus ca. 210 Aminosäuren. Ihre Form ist flach-elliptisch mit einer vierflügeligen β -Propeller-Struktur (GOMIS-RÜTH et al., 1996;


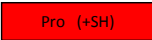


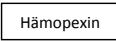








NAGASE und WOESSNER, 1999). Die Hämapexin-ähnliche Domäne ist bei den Kollagenasen für die Spaltung dreifach-helikaler interstitieller Kollagene wichtig (MURPHY et al., 1992a; BODE, 1995; NAGASE und WOESSNER, 1999). MMP-2 benötigt die Hämapexin-ähnliche Domäne für die MMP-14 –vermittelte Aktivierung von proMMP-2 an der Zelloberfläche (MURPHY et al., 1992b; STRONGIN et al., 1995; NAGASE und WOESSNER, 1999). MMP-23 besitzt anstelle der Hämapexin-ähnlichen Domäne den „cystein array“, eine Cystein- und Prolin-reiche Sequenz, sowie eine Interleukin-1-Rezeptor-ähnliche bzw. Immunglobulin-ähnliche Domäne (NAGASE und WOESSNER, 1999; VELASCO et al., 1999; STERNLICHT und WERB, 2001; ALLDINGER, 2009).

Bei der Gruppe der „Membrane-Type MMPs“ werden Typ 1–transmembrane MMPs, Glycosyl-Phosphatidyl-Inositol (GPI)–verankerte MMPs und Typ 2–transmembrane MMPs unterschieden. Erstere besitzen ein extrazelluläres aminoterminals Ende, eine einzelne transmembrane Domäne und ein kurzes, zytoplasmatisch gelegenes C-terminals Ende. Die GPI-verankerten MMPs besitzen als Ankersignal eine C-terminale hydrophobe Region. Die bislang einzige Typ 2–transmembrane MMP ist MMP-23. Hier liegt das aminoterminals Ende intrazellulär (STERNLICHT und WERB, 2001; SOMERVILLE et al., 2003; ALLDINGER, 2009).

Tabelle 3 zeigt schematisch den Aufbau der Matrix-Metalloproteinasen.

Tabelle 3: Schematischer Aufbau der Matrix-Metalloproteinasen (nach ALLDINGER, 2009)

| | |
|--|--|
| Gruppe 1 MMPs mit einfacher Hämapexin-Domäne | |
| Gruppe 2 Gelatine-bindende MMPs | |
| Gruppe 3 MMPs mit minimaler Domäne | |
| Gruppe 4 Furin-aktivierte und sezernierte MMPs | |
| Gruppe 5 MMPs mit Vitronektin-ähnlichen Einschüben | |
| Gruppe 6 Typ 1-transmembrane MMPs | |
| Gruppe 7 GPI-verankerte MMPs | |
| Gruppe 8 Typ 2-transmembrane MMPs | |

| Legende zu Tabelle 3: | |
|--|--|
|  | Signalpeptid |
|  | Propeptid-Domäne mit Thiol-(SH)-Gruppe |
|  | Katalytische Domäne mit Zink-Atom |
|  | „hinge“-Region |
|  | Hämopexin-Domäne |
|  | Fibronektin Typ II-Einschübe |
|  | Furin-Spaltungsstelle |
|  | Vitronektin-ähnlicher Einschub |
|  | Transmembran-Domäne |
|  | GPI-Ankersignal |
|  | intrazellulärer Signalanker |
|  | “cysteine array” |
|  | Immunglobulin-Domäne |

2.3.4 Aktivierung der Matrix-Metalloproteinasen

MMPs werden als inaktive Proenzyme synthetisiert. Im Proenzym wird das Zink-Ion der katalytischen Domäne von einer Cysteinsulphydrylgruppe der Pro-Domäne gebunden (VAN WART und BIRKEDAL-HANSEN, 1990; NAGASE und WOESSNER, 1999; STERNLICHT und WERB, 2001). Im Rahmen der Aktivierung wird die Pro-Domäne proteolytisch abgespalten und somit die Bindung zwischen Cystein und Zink gelöst. Man spricht von „Cysteine-switch“. Die abgespaltene Thiol-Gruppe (-SH) wird durch ein Wassermolekül ersetzt, welches die Peptidbindungen der MMP-Substrate angreifen kann (VAN WART und BIRKEDAL-HANSEN, 1990; STERNLICHT und WERB, 2001).

Der „Cysteine-switch“ kann durch die Protease Plasmin, durch bereits aktivierte MMPs, durch Konformationsänderungen und *in vitro* auch durch Behandlung mit diversen Chemikalien induziert werden (VAN WART und BIRKEDAL-HANSEN, 1990; LIJNEN, 2001; SOMERVILLE et al., 2003; VISSE und NAGASE, 2003).

Die meisten pro-MMPs werden zellulär sezerniert und erst im Extrazellularraum aktiviert. Eine Ausnahme stellt beispielsweise proMMP-2 dar, das an der Zelloberfläche aktiviert wird (VISSE und NAGASE, 2003). Hierbei bilden MMP-14 (= MT1-MMP) und TIMP-2 einen Komplex, der die Hämoxygenase-ähnliche Domäne von proMMP-2 bindet und zu dessen Aktivierung führt (MURPHY et al., 1992b; STRONGIN et al., 1995; NAGASE und WOESSNER, 1999; STERNLICHT und WERB, 2001).

Eine weitere Ausnahme stellen die MMPs mit Furin-Spaltungsstelle dar. Dies sind Furin-aktivierte, sezernierte MMPs (Gruppe 4) und die „Membrane-Type-MMPs“. Sie werden bereits intrazellulär durch Furin proteolytisch aktiviert (PEI und WEISS, 1995; STERNLICHT und WERB, 2001).

2.3.5 Tissue Inhibitoren der Metalloproteinasen (TIMPs)

„Tissue Inhibitors of Metalloproteinases“ (Tissue Inhibitoren der Metalloproteinasen, TIMPs) sind endogene Inhibitoren der MMPs und in der Lage, diese im Verhältnis 1:1 zu binden (BREW et al., 2000; VISSE und NAGASE, 2003). Es handelt sich hierbei um eine sehr alte, eukaryotische Proteingruppe (BREW et al., 2000). Bei Vertebraten sind vier TIMPs bekannt: TIMP-1, -2, -3 und -4 (BREW et al., 2000; BAKER et al., 2002; VISSE und NAGASE, 2003; IYER et al., 2012). Unter pathologischen Bedingungen verändert sich das MMP-TIMP-Verhältnis im Gewebe (VISSE und NAGASE, 2003).

TIMPs besitzen eine N- und eine C-terminale Domäne. Die N-terminale Domäne besteht aus ca. 125, die C-terminale Domäne aus ca. 65 Aminosäuren. Jede Domäne besteht aus drei

Schleifen und besitzt je drei konservierte Disulfidbrücken (WILLIAMSON et al., 1990; MURPHY et al., 1991; BREW et al., 2000; BAKER et al., 2002; VISSE und NAGASE, 2003; BREW und NAGASE, 2010; SBARDELLA et al., 2012). Die verschiedenen TIMPs unterscheiden sich in ihrer Sequenz und Glykosylierung. Ihr Molekulargewicht beträgt ca. 21 kDa (BREW et al., 2000; BAKER et al., 2002). Beim Menschen findet sich eine Sequenz-übereinstimmung der vier TIMPs von ca. 40 % (BREW und NAGASE, 2010; SBARDELLA et al., 2012).

TIMP-1, -2 und -4 werden als lösliche Proteine sezerniert, können aber auch an zellmembrangebundene Proteine binden. TIMP-3 ist als unlösliches Protein an extrazelluläre Matrix-Komponenten gebunden (LECO et al., 1994; BAKER et al., 1998; YU et al., 2000; BAKER et al., 2002).

Die N-terminale Domäne ist als separate Einheit gefaltet und für die Hemmung der MMPs verantwortlich (MURPHY et al., 1991; VISSE und NAGASE, 2003). Die vier TIMPs unterscheiden sich in ihrer Affinität zu den verschiedenen MMPs (BREW et al., 2000; BREW und NAGASE, 2010). Soweit bislang bekannt, können jedoch alle TIMPs alle MMPs hemmen. Eine Ausnahme stellt lediglich TIMP-1 dar, das MMP-14 nicht hemmt (MURPHY et al., 1991; WILL et al., 1996; VISSE und NAGASE, 2003).

Die biologische Funktion von TIMPs beschränkt sich jedoch nicht nur auf die Hemmung der MMPs. Auch Mitglieder der Peptidasenfamilien der ADAMs (A Disintegrin And Metalloproteinase) und ADAMTS (ADAM with Thrombospondin type-1 motif) werden von ihnen inhibiert (BREW und NAGASE, 2010).

Die Überexpression der TIMPs hemmt das Tumorwachstum (BAKER et al., 1999; BREW et al., 2000; VISSE und NAGASE, 2003; HUA et al., 2011). Andererseits können TIMP-1, -2 und -4 die Apoptose von Tumorzellen auch verhindern (HUA et al., 2011). TIMP-1 und -2 fördern zusätzlich die Erythropoese (DOCHERTY et al., 1985; STETLER-STEVENSON et al., 1992; BREW et al., 2000) und das Zellwachstum (HAYAKAWA et al., 1992; HAYAKAWA et al., 1994; VISSE und NAGASE, 2003). TIMPs können die Angiogenese hemmen, pro- und anti-apoptotisch wirken und die Ausbildung von nervalen Synapsen beeinflussen (BREW und NAGASE, 2010; SBARDELLA et al., 2012). Diese biologischen Funktionen der TIMPs finden unabhängig von ihrer Fähigkeit, MMPs zu hemmen, statt (HAYAKAWA et al., 1994; CHESLER et al., 1995; BREW et al., 2000; BREW und NAGASE, 2010).

Da Matrix-Metalloproteinasen bei einer Vielzahl von Erkrankungen eine Rolle spielen, liegt der Gedanke nahe, endogene TIMPs therapeutisch nutzbar zu machen. Hierbei zeigen sich

jedoch eine mangelnde pharmakologische Stabilität, eine inadäquate Gewebspenetration sowie Probleme bei der systemischen Applikation der makromolekularen TIMPs. Ebenfalls negative Auswirkungen hat ihre mangelnde Selektivität in ihrer Funktion als MMP-, ADAM- und ADAMTS-Inhibitoren. Dazu kommt teilweise eine paradoxe Stimulation des Tumorstwachstums durch TIMPs (OVERALL und LÓPEZ-OTÍN, 2002; SHI et al., 2012).

2.3.6 Weitere Inhibitoren der Matrix-Metalloproteinasen

α_2 -Makroglobulin ist der Hauptinhibitor der MMPs in Gewebsflüssigkeiten und im Plasma (BAKER et al., 2002; ALLDINGER, 2009). α_2 -Makroglobulin ist ein Protein, das aus vier nahezu identischen, durch Disulfidbrücken verbundenen Domänen besteht. Das Molekulargewicht beträgt 772 kDa (BAKER et al., 2002). Hauptsyntheseort ist die Leber, doch auch andere Zellen, z.B. Makrophagen, sind zur Synthese fähig (SOTTRUP-JENSEN und BIRKEDAL-HANSEN, 1989; BAKER et al., 2002). α_2 -Makroglobulin hemmt nicht nur die MMPs, sondern auch eine Vielzahl anderer Proteinasen. Hierbei wird die sogenannte „bait-Region“ der α_2 -Makroglobuline proteolytisch gespalten, was zu einer Konformationsänderung und Bindung der Proteinase durch kovalente Transacetylierung führt (SOTTRUP-JENSEN und BIRKEDAL-HANSEN, 1989; BAKER et al., 2002).

Bei **RECK (Reversion inducing Cysteine-rich protein with Kazal motifs)** handelt es sich um ein membrangebundenes Glykoprotein, dass MMP-2, -9 und -14 inhibiert und somit die Invasivität und Metastasierung von Tumoren hemmt (TAKAHASHI et al., 1998; OH et al., 2001; BAKER et al., 2002).

Es gibt eine Reihe von Proteinen, die Sequenzen mit Ähnlichkeiten zur N-terminalen Domäne der TIMPs aufweisen, sogenannte NTR-Module (Netrin-Module). Zu nennen sind hier die **Netrine**, die „**Secreted Frizzled-related Proteins**“ (SFRPs) und die **PCOLCEs (Type I Procollagen C-proteinase Enhancer Proteins)**. Netrine beeinflussen durch Chemotaxis das Auswachsen von Axonen, PCOLCEs fördern die Aktivität des „Bone Morphogenetic Protein-1“ (BMP-1) und die SFRPs spielen unter anderem eine Rolle bei der Skelettentwicklung. Aufgrund ihrer NTR-Module kommen sie als potentielle MMP-Inhibitoren in Frage (BÁNYAI und PATTHY, 1999; BAKER et al., 2002).

Ein weiterer MMP-Inhibitor ist **TFPI-2 (Tissue Factor Pathway Inhibitor-2)**. Es handelt sich um einen Serinproteinaseinhibitor, der aus drei Domänen mit je drei Disulfidbrücken besteht und so in seiner Struktur ebenfalls an die TIMPs erinnert. TFPI-2 bildet Co-Präzipitate mit MMP-1, -2, -9, -13 und proMMP-2. Als Inhibitor der extrazellulären Matrix-

Degradierung spielt TFPI-2 somit eine Rolle bei chronisch entzündlichen Erkrankungen, der Arteriosklerose und Krebserkrankungen (HERMAN et al., 2001; BAKER et al., 2002).

Auch **Thrombospondin-1 und -2** sind MMP-Inhibitoren (BAKER et al., 2002; EGBLAD und WERB, 2002). Thrombospondin-1 hemmt die Aktivierung von proMMP-2 und -9 (BEIN und SIMONS, 2000; RODRIGUEZ-MANZANEQUE et al., 2001). In anderen Untersuchungen wird aber auch eine gesteigerte Aktivierung von MMP-2 und -9 durch Thrombospondin-1 nachgewiesen (TARABOLETTI et al., 2000). Thrombospondin-2 bildet mit MMP-2 Komplexe, bevor es zur Scavenger-Rezeptor-vermittelten Endozytose kommt (YANG et al., 2001).

2.3.7 Matrix-Metalloproteinasen und ihre Rolle bei verschiedenen Erkrankungen in der Human- und Tiermedizin

Aufgrund ihrer enzymatischen Aktivität spielen die MMPs eine wichtige Rolle beim Abbau von extrazellulärer Matrix im Rahmen der Gewebsresorption. Doch MMPs sind auch am Zellzyklus, an der Zellmigration, an Wachstum und Entwicklung, an der Apoptose, bei entzündlichen und antientzündlichen Vorgängen sowie an zahlreichen weiteren biologischen Vorgängen beteiligt (LEI et al., 1996; PILCHER et al., 1997; MCQUIBBAN et al., 2000; VISSE und NAGASE, 2003; SBARDELLA et al., 2012).

Bei einer Reihe von humanen Erkrankungen ist eine Störung des Gleichgewichts aus Aktivierung und Inhibition der MMPs beschrieben. Neben der Parodontitis sind hier auch Krebserkrankungen, Arthritiden, Arteriosklerose, Aneurysmenbildung, Nephritiden oder das bullöse Pemphigoid zu nennen (WOESSNER, 1994; STERNLICHT und BERGERS, 2000; VISSE und NAGASE, 2003; SBARDELLA et al., 2012; SIEFERT und SARKAR, 2012).

Auch beim Hund ist die Rolle von Matrix-Metalloproteinasen bei der Pathogenese von tumorösen Erkrankungen bekannt (LOUKOPOULOS et al., 2003; PALTIAN, 2006; BORNBAUM, 2012). Bei der Staupeenzephalitis des Hundes kann *in-vitro* eine virus-induzierte gesteigerte Expression bestimmter MMPs und TIMPs gezeigt werden (ALLDINGER, 2009). Zudem spielen MMPs bei der rheumatoiden Arthritis, bei der dilatativen Kardiomyopathie und bei der Keratokonjunktivitis des Hundes eine Rolle (GILBERT et al., 1997; COUGHLAN et al., 1998; ARICAN und CEYLAN, 1999; LOUKOPOULOS et al., 2003).

2.3.8 Bedeutung der Matrix-Metalloproteinasen bei der Pathogenese der Parodontitis

MMPs sind Schlüsselpoteasen beim Gewebsabbau und –umbau. Bei der Parodontitis führen sie zum massiven Verlust von Kollagen im Parodontalgewebe (LEE et al., 1995; KUBOTA et al., 1996; TERVAHARTIALA et al., 2000; MARCACCINI et al., 2009). Die Entstehung einer Parodontitis und die in ihrem Verlauf auftretende Gewebszerstörung ist jedoch ein Geschehen, bei dem sowohl mikrobielle als auch körpereigene Faktoren eine Rolle spielen. Mikroorganismen sind in der Lage, proteolytische, bakterieneigene Enzyme zu sezernieren, mikrobielle Toxine stimulieren wirtseigene Zellen zur Expression gewebsabbauender Enzyme und Mikroorganismen können wirtseigene, immunologische und entzündliche Reaktionen hervorrufen (ROBERTSON et al., 1982; BIRKEDAL-HANSEN et al., 1984; MEIKLE et al., 1989; BIRKEDAL-HANSEN, 1993; DAHAN et al., 2001). In letztgenanntem Fall führen aktivierte Leukozyten in den Phasen der Erkrankungsprogression zur Expression von Entzündungsmediatoren, z.B. Zytokinen, die wiederum wirtseigene Matrix-Metalloproteinasen aktivieren, welche Alveolarknochen und Weichteilgewebe zerstören. Die Produktion von Matrix-Metalloproteinasen erfolgt also im Rahmen der körpereigenen Abwehr, bewirkt aber die fortschreitende Gewebszerstörung (OFFENBACHER, 1996; HERNANDEZ et al., 2011). Die Rolle der MMPs bei der Parodontitis des Hundes ist bislang wenig untersucht. Es gibt jedoch zahlreiche humanmedizinische Studien, die sich mit den verschiedenen Aspekten dieser Thematik befassen.

2.3.9 Die Rolle der Matrix-Metalloproteinasen bei der humanen Parodontitis

MMPs werden auch in der gesunden Gingiva für das Remodelling von Bindegewebe produziert, sobald die Gingiva jedoch entzündet ist, werden bestimmte MMPs verstärkt exprimiert (KUBOTA et al., 1996). Dies belegen, wie im Folgenden dargelegt, auch zahlreiche weitere Untersuchungen aus der Humanmedizin. Die Ergebnisse bezüglich der TIMPs sind hingegen teilweise widersprüchlich.

EJEIL und Mitarbeiter (2003) können zeigen, dass es eine Korrelation zwischen der verstärkten Gewebsexpression von MMP-1, -2, -9 und -13 sowie von TIMP-1 mit dem Verlust von Kollagenfasern in erkrankter humaner Gingiva gibt. KUBOTA und Mitarbeiter (1996) weisen in von Parodontitis betroffener Gingiva signifikant erhöhte Spiegel der mRNA von MMP-1, -3, -8 und TIMP-1 nach. Ebenso können KUBOTA und Mitarbeiter (2008) eine verstärkte Expression von MMP-1, -3, -9 und -13, TIMP-1 und -4 in der Gingiva von Parodontitispatienten nachweisen. Dies ist im Rahmen dieser Untersuchung allerdings nur im

Fall von MMP-1 und TIMP-4 statistisch signifikant. Zudem zeigen KUBOTA und Mitarbeiter (2008) eine Imbalance zwischen MMPs und TIMPs auf: Das Verhältnis von MMPs zu TIMPs verschiebt sich zu Gunsten der MMPs. Somit ist bei Vorliegen einer Parodontitis das Gleichgewicht von Abbau und Aufbau der extrazellulären Matrix nicht mehr gewahrt.

SOELL und Mitarbeiter (2002) können mittels ELISA-Technik einen signifikanten Anstieg von MMP-1, -2, -3 und -9 in Gewebwasserproben und der Sulkusflüssigkeit von Parodontitispatienten im Vergleich zu einer parodontal gesunden Kontrollgruppe feststellen. Die Spiegel von TIMP-1 und TIMP-2 in den Gewebwasserproben und der Sulkusflüssigkeit von Parodontitispatienten sind hingegen signifikant erniedrigt. Die Aktivität von MMP-1, -2, -3 und -9 ist in Gewebwasserproben und der Sulkusflüssigkeit von Parodontitispatienten im Vergleich zur parodontal gesunden Kontrollgruppe signifikant erhöht. Wird der Anteil der aktivierten MMPs in Gewebwasserproben und der Sulkusflüssigkeit von Parodontitispatienten mit dem der Kontrollgruppe verglichen, ergeben sich jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede. Auch SOELL und Mitarbeiter (2002) ziehen daraus die Schlussfolgerung, dass ein Ungleichgewicht zwischen den MMPs und den TIMPs - genauer gesagt ein Anstieg der MMPs und ein Abfall der TIMPs - für das Fortschreiten einer Parodontitis verantwortlich sind.

Bei Western-Blot-Untersuchungen von Parodontitispatienten sind MMP-3, MMP-8 und -9 in der Sulkusflüssigkeit erhöht (BEKLEN et al., 2006). HERNÁNDEZ RÍOS und Mitarbeiter (2009) weisen zudem bei Patienten mit aktivem Parodontitisschub eine erhöhte MMP-13-Aktivität in der Sulkusflüssigkeit nach. In kultivierten Gingivabiopтатаen wird die Aktivierung von proMMP-9 durch die Behandlung mit MMP-13 gesteigert bzw. durch Inkubation mit einem synthetischen selektiven MMP-13-Inhibitor (CL-82198) gehemmt. Dies lässt den Schluss zu, dass MMP-13 sowohl am Abbau des Zahnhalteapparates beteiligt ist, als auch mit MMP-9 eine Aktivierungskaskade bei der chronischen Parodontitis bildet. Sowohl für diagnostische Zwecke als auch für die Entwicklung einer medikamentösen Therapie könnte dies von Bedeutung sein.

MÄKELÄ und Mitarbeiter (1994) weisen in Mundspülflüssigkeit, im Speichel und in Sulkusflüssigkeit von Parodontitispatienten im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe eine erhöhte Aktivität von MMP-2 und MMP-9 nach. In Folge einer Parodontalbehandlung kann ein statistisch signifikanter Rückgang der MMP-Aktivität beobachtet werden.

In einer Untersuchung von RAI und Mitarbeitern (2008) werden mittels ELISA-Technik die Spiegel von MMP-2 und -9 aus Sulkusflüssigkeit und MMP-8 aus dem Speichel von Patienten mit Gingivitis oder Parodontitis mit denen einer parodontal gesunden Kontrollgruppe

verglichen. Parodontitispatienten weisen hierbei signifikant höhere Spiegel von MMP-8 und -9 auf als die beiden Vergleichsgruppen, der MMP-2-Spiegel ist in dieser Untersuchung hingegen erniedrigt.

DAHAN und Mitarbeiter (2001) untersuchen mittels RT-PCR (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction) den Zusammenhang zwischen der Expression der mRNA von MMP-1, -2 und -14 und dem klinischen Erscheinungsbild der Gingiva. Es können zwar keine signifikanten Expressionsunterschiede zwischen Parodontitispatienten und einer gesunden Kontrollgruppe festgestellt werden, die mRNA von MMP-2 und -14 kann jedoch mittels *in situ*-Hybridisierung in Fibroblasten aus chronisch entzündlich veränderten Gingivabioptaten dargestellt werden. Zudem können DAHAN und Mitarbeiter (2001) zeigen, dass es bei experimenteller Infektion von menschlichen Gingivafibroblasten mit *Eikenella corrodens*, einem humanparodontopathogenen Keim, zu einem Anstieg der Expression von MMP-2 um das Dreifache kommt. DAHAN und Mitarbeiter (2001) kommen zu dem Ergebnis, dass die gingivalen Fibroblasten auf Kontakt zu parodontalpathogenen Keimen mit einer gesteigerten Produktion von MMP-2 reagieren.

Parodontitis und kardiovaskuläre Erkrankungen kommen nicht selten assoziiert vor (LOOS et al., 2000; MARCACCINI et al., 2009; SÖDER et al., 2009). Der Zusammenhang wird über systemische Entzündungsmarker und Matrix-Metalloproteinasen hergestellt (LOOS et al., 2000; MARCACCINI et al., 2009). Parodontitispatienten zeigen auch im Plasma erhöhte MMP-Spiegel, welche nach entsprechender Therapie einen Rückgang zeigen (MARCACCINI et al., 2009; MESCHIARI et al., 2013).

MESCHIARI und Mitarbeiter (2013) untersuchen die Spiegel von MMP-8, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 und Myeloperoxidase im Speichel vor und drei Monate nach nicht-chirurgischer Parodontitisbehandlung und vergleichen die Ergebnisse mit den jeweiligen Plasmaspiegeln. MMP-8, MMP-9, TIMP-1 und TIMP-2 werden mittels ELISA untersucht, die gelatinolytische Aktivität von MMP-9 mittels Zymographie und die Myeloperoxidase-Aktivität mittels Kolorimetrie. Drei Monate nach nicht-chirurgischer Parodontalbehandlung zeigen sich eine geringere gelatinolytische Aktivität und eine geringere MMP-8- und TIMP-2-Konzentration im Speichel als vor Therapie. Zudem bestehen signifikante Zusammenhänge zwischen der gelatinolytischen Aktivität im Speichel und den Plasmaspiegeln von MMP-8 und -9 sowie zwischen den TIMP-2-Spiegeln in Speichel und Plasma.

MARCACCINI und Mitarbeitern (2009) zeigen, dass die Plasmakonzentrationen von MMP-3, -8, und -9 sowie die gelatinolytische Aktivität bei Parodontitispatienten im Vergleich zu

einer Kontrollgruppe erhöht sind. Durch nicht-chirurgische Therapie sinken die Plasmapiegel von MMP-8 und -9 um 35 % bzw. 39 %. Auch die gesteigerte gelatinolytische Aktivität, die hauptsächlich auf den MMPs beruht, geht signifikant zurück. Der Plasmaspiegel von MMP-3 zeigt hingegen keine Veränderung. Die Untersuchung zeigt, dass durch die gesteigerten Konzentrationen zirkulierender MMPs und die gesteigerte gelatinolytische Aktivität im Rahmen einer Parodontitis ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen besteht, da parodontale Erkrankungen zu einem proinflammatorischen Zustand führen, der für systemische, chronisch-entzündliche Erkrankungen prädisponiert (MARCACCINI et al., 2009). Diese Arbeitsgruppe zieht daraus die Schlussfolgerung, dass die Behandlung einer Parodontitis eine entscheidende Prophylaxemaßnahme gegenüber systemischen, chronisch entzündlichen Erkrankungen und insbesondere von kardiovaskulären Erkrankungen darstellt.

Auch andere Autoren befassen sich mit dieser Möglichkeit. Bei Vorliegen einer Parodontitis kommt es, vermutlich aufgrund entzündlicher Reaktionen oder der Wirkung parodontalpathogener Keime, zur Entwicklung einer endothelialen Dysfunktion, welche ein früher Faktor in der Entwicklung der Arteriosklerose ist und sich negativ auf die Prognose auswirkt. Nach parodontaler Behandlung kommt es jedoch zu einer signifikanten Verbesserung der endothelialen Funktion (SEINOST et al., 2005; ELTER et al., 2006; TONETTI et al., 2007).

Ausgehend vom bisherigen Kenntnisstand kann man festhalten, dass die Prophylaxe und Behandlung einer parodontalen Erkrankung positive Auswirkungen auf systemische entzündliche Prozesse und Erkrankungen hat (CULLINAN et al., 2009; GLICKMAN et al., 2009; TONETTI, 2009).

2.3.10 Die Rolle der Matrix-Metalloproteinasen bei der Parodontitis des Hundes

Die beim Hund natürlicherweise auftretende oder auf experimentellem Wege erzeugte Parodontitis ist ein Modell der humanmedizinischen Parodontitisforschung (OZ und PULEO, 2011; ALBUQUERQUE et al., 2012). Bislang gibt es jedoch nur wenige Untersuchungen zur Rolle von Matrix-Metalloproteinasen bei der Parodontitis in der Veterinärmedizin.

SCHWARZ und Mitarbeiter (2007) untersuchen an fünf Beagle-Hunden histologisch und immunhistologisch den Verlauf der parodontalen Wundheilung nach nicht-chirurgischer Parodontalbehandlung mit einem Er:YAG-Laser (Erbium-Yttrium-Aluminium-oxid-Granat-Laser). Mittels Immunhistologie weisen sie MMP-8 in den Zellen des entzündlichen Infiltrates nach. An Lokalisationen mit verstärkter entzündlicher Infiltration und Alveolarknochenabbau zeigt sich ein verstärktes immunhistologisches Signal für MMP-8, in

Proben mit Zementneubildung zeigt sich hingegen ein schwaches immunhistologisches Signal für MMP-8 (SCHWARZ et al., 2007).

KIM und Mitarbeiter (2013) untersuchen zymographisch die Aktivität von MMP-2 und MMP-9 in kaninem Gingivagewebe, um eine subantimikrobiellen Doxycyclindosis für den Hund zu ermitteln.

PAULA-SILVA und Mitarbeiter (2010) untersuchen an 15 Hunden mittels Immunhistologie die Expression von MMP-1, -2, -8 und -9 bei der experimentell erzeugten apikalen Parodontitis und der folgenden Wurzelkanalbehandlung. Die Untersuchung zeigt an erkrankten, aber unbehandelten Zähnen eine vermehrte MMP-Expression.

KRYSHTALSKYJ und Mitarbeiter (1986) untersuchen an zwei männlichen Beagle-Hunden mit experimentell induzierter Parodontitis verschiedene klinische Parameter sowie die kollagenolytische Aktivität in der Sulkusflüssigkeit. An klinisch erkrankten Lokalisationen zeigt sich eine signifikant höhere kollagenolytische Aktivität, eine signifikant niedrigere Aktivität von Kollagenase-Inhibitoren und eine stärkere Produktion von Sulkusflüssigkeit als an den Kontroll-Lokalisationen. An parodontal erkrankten Lokalisationen überwiegen die aktiven Enzyme, an gesunden oder von Gingivitis betroffenen Lokalisationen überwiegt hingegen die latente Form. Zudem besteht eine Korrelation zwischen dem Vorhandensein aktiver Enzyme, der Produktion von Sulkusflüssigkeit und dem klinischen Attachmentverlust. Die kollagenolytische Eigenschaft der von KRYSHTALSKYJ und Mitarbeitern (1986) untersuchten Enzyme lässt vermuten, dass es sich hierbei um Matrix-Metalloproteinasen handelt, jedoch wird dies nicht genauer spezifiziert. Bezüglich der Untersuchung von PAULA-SILVA und Mitarbeitern (2010) muss beachtet werden, dass es sich bei der apikalen Parodontitis um ein anderes Krankheitsbild mit anderer Pathogenese als bei der Parodontitis handelt. In der vorliegenden Arbeit soll die Rolle der Matrix-Metalloproteinasen bei der Parodontitis des Hundes eingehender beleuchtet werden.

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Patientengut

Untersucht werden über 12 Monate alte Hunde jeglicher Rasse, jeglichen Gewichts und Geschlechts. Ausgeschlossen sind Tiere, die aufgrund der klinischen Untersuchung als nicht narkosefähig eingeschätzt werden, die in den letzten 6 Monaten eine Zahnsanierung erhalten haben, in den letzten 7 Tagen Antibiotika oder Entzündungshemmer (NSAIDs, Kortikosteroide) erhalten haben oder unter immunsuppressiver Therapie stehen. Weitere Ausschlusskriterien sind das Vorliegen einer systemischen entzündlichen, einer infektiösen oder einer immunologischen Erkrankung, sowie tumoröse oder durch ein akutes Trauma hervorgerufene Veränderungen in der Mundhöhle. Kein Ausschlusskriterium sind Zahn- oder Kieferfehlstellungen, alte Zahnfrakturen, fehlende oder überzählige Zähne.

Insgesamt werden 57 Tiere untersucht. Die Fallzahlberechnung erfolgt durch Herrn Dr. Klaus Failing, Leiter der AG Biomathematik und Datenverarbeitung der Justus-Liebig-Universität in Gießen mit Hilfe des Statistikprogrammes „BiAS. für Windows, Biometrische Analyse von Stichproben, Version 9.08, Modul Studienplanung“ (ACKERMANN, 2010).

Das Patientengut setzt sich zusammen aus 22 Mischlingen, 11 Beagle, 4 Labrador Retrievern, 3 Chihuahuas, 2 Yorkshire Terriern und 15 weiteren Rassen. Das Alter der untersuchten Hunde beträgt 1–12 Jahre mit einem durchschnittlichen Alter von 5,3 Jahren. 19 Tiere sind männlich-kastriert, 15 weiblich-kastriert, 13 männlich unkastriert und 10 weiblich unkastriert. Die Tiere werden in 5 Gruppen unterteilt (Parodontalerkrankung Grad 0–4, siehe unten). Gruppe 0 stellt die Kontrollgruppe dar, die Gruppen 1–4 enthalten die erkrankten Tiere. Eine Übersicht über die untersuchten Hunde findet sich in Tabelle 4 im Anhang. Die statistische Auswertung zielt darauf ab, eine Korrelation zwischen Schwere der Parodontalerkrankung und der MMP- und TIMP-Expression herzustellen.

Die Patientengruppen 1–4 werden aus Tieren rekrutiert, die in der stomatologischen Abteilung der Klinik für Kleintiere, Chirurgie, der Justus-Liebig-Universität aufgrund einer Parodontalerkrankung vorgestellt werden. Die Kontrollgruppe wird aus Patienten der Kleintierklinik rekrutiert, die durch klinische und radiologische Untersuchungen als parodontitisfrei befundet werden, aber aus anderen Gründen, z.B. einer Zahnreinigung, in Narkose gelegt werden müssen. Alle Patienten, die in die Studie aufgenommen werden (sowohl parodontal erkrankte Tiere als auch die Kontrollgruppe), müssen in der allgemeinen

klinischen und labordiagnostischen Untersuchung unauffällig sein, um andere entzündliche Erkrankungen auszuschließen.

Die Patienten werden nüchtern (letzte Nahrungsaufnahme 12 Stunden vor Vorstellung) vorgestellt.

Das Versuchsvorhaben wurde dem Regierungspräsidium Gießen vor der Durchführung angezeigt und genehmigt (Geschäftszeichen V54 – 19 c 20 15 (1) GI 18/17 Nr. 13/2012).

3.1.2 Anamnese, allgemeine klinische Untersuchung, labordiagnostische Untersuchung

Bei allen untersuchten Tieren wird eine Anamnese, eine klinische sowie labordiagnostische Untersuchung durchgeführt.

In der Anamnese werden die Besitzer der untersuchten Hunde nach den Symptomen befragt, die sie veranlasst haben, ihr Tier zu einer Zahnsanierung vorzustellen. Ebenso werden das Allgemeinbefinden des Tieres (unverändert, geringgradig, mittelgradig oder hochgradig gestört), eventuell bestehende weitere akute oder chronische Erkrankungen und verabreichte Medikamente erfragt.

In der allgemeinen klinischen Untersuchung wird insbesondere auf Hinweise auf eine akute oder chronische entzündliche, eine infektiöse oder immunologische Erkrankung geachtet. Zur Einschätzung der Narkosefähigkeit wird eine sorgfältige Untersuchung des Herzkreislaufsystems durchgeführt.

Zur labordiagnostischen Untersuchung gehören ein komplettes Differentialblutbild und eine klinisch-chemische Blutuntersuchung.

3.1.3 Anästhesie

An die vorangehenden allgemeinen Untersuchungen schließt sich die klinische und radiologische Untersuchung der Mundhöhle in Allgemeinnarkose an.

Es wird ein Venenverweilkatheter in die Vena cephalica antebrachii bzw. in die Vena saphena lateralis gelegt.

Die intravenöse Prämedikation des Patienten erfolgt mit 0,5 mg/kg Körpergewicht Diazepam¹ und 0,025 mg/kg Körpergewicht Atropinsulfat² in einer Mischspritze. Die Einleitung der Narkose erfolgt unmittelbar im Anschluss durch 3,3 mg/kg Körpergewicht Ketamin³ und 0,3 mg/kg Körpergewicht Xylazin⁴, ebenfalls intravenös in einer Mischspritze. Die Erhaltung der

¹ Diazepam-ratiopharm® 10mg/2ml Injektionslösung, ratiopharm GmbH, Ulm

² Atropinsulfat B. Braun 0,5 mg/ml Injektionslösung, B. Braun Melsungen AG, Melsungen

³ Ketamin 10% Injektionslösung für Hunde und Katzen, medistar® Arzneimittelvertrieb GmbH, Ascheberg

⁴ Xylazin 2% Bernburg, medistar® Arzneimittelvertrieb GmbH, Ascheberg

Narkose während der klinischen und radiologischen Untersuchung erfolgt zunächst intravenös mit 2 mg/kg Körpergewicht Ketamin und 0,2 mg/kg Xylazin (Mischspritze). Vor der sich anschließenden Zahnbehandlung wird der Patient orotracheal intubiert und die Narkose inhalativ mittels Isofluran⁵ in einer Konzentration von 2 Volumenprozent in Kombination mit Sauerstoff aufrechterhalten.

Während der gesamten Narkosedauer erhält der Patient eine Infusion mit Vollelektrolyt-lösung⁶ mit einer Infusionsgeschwindigkeit von 10 ml/kg/h.

3.1.4 Spezielle klinische und radiologische Untersuchung der Mundhöhle

Es erfolgt eine ausführliche stomatologische und radiologische Untersuchung des Patienten.

Um einen Zahn exakt benennen zu können, wird das aus der Humanmedizin stammende, nach Triadan modifizierte Zahnschema der Fédération Dentaire Internationale (FDI) herangezogen, welches jeden Zahn mit drei Ziffern beschreibt (siehe Abbildung 2; EICKHOFF, 2005).

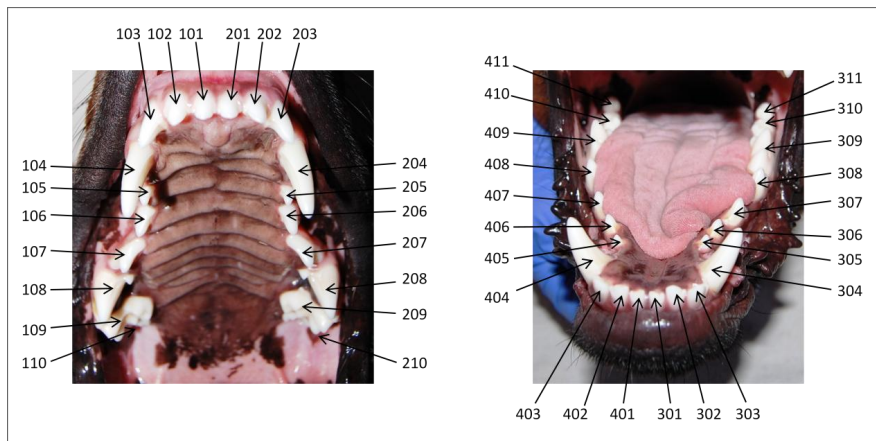


Abbildung 2: Nach Triadan modifiziertes Zahnschema der FDI

Die erste Ziffer gibt an, ob sich der Zahn im rechten oder linken Ober- oder Unterkiefer befindet. Bei der zweiten und dritten Ziffer handelt es sich um eine am mesialsten Incisivus beginnende und nach distal fortlaufende Nummerierung. Dem rechten Oberkiefer ist die Ziffer 1 zugeordnet, dem linken Oberkiefer die Ziffer 2, dem linken Unterkiefer die Ziffer 3 und dem rechten Unterkiefer die Ziffer 4.

⁵ Isoflo®, Albrecht, Aulendorf

⁶ Sterofundin®, Lösung zur intravenösen Infusion, 1/1 E, B. Braun Melsungen AG, Melsungen

Die klinische Untersuchung orientiert sich an den Vorgaben von EICKHOFF (2005) und GORREL (2006). Klinisch untersucht werden die Anzahl der vorhandenen Zähne, die Zahnfleischtaschentiefe und eine spontan oder bei Sondierung auftretende Blutung. Bei jedem Patienten wird das Gebiss vollständig untersucht, indem jeder Zahn in seinem gingivalen Sulcus mit einer Parodontalsonde (Zoetis) vollständig umfahren wird. Die Parodontalsonde besitzt Markierungen für 1, 2, 3, 5, 7, 8, 9 und 10 mm Sondierungstiefe (siehe Abbildungen 3a und b).

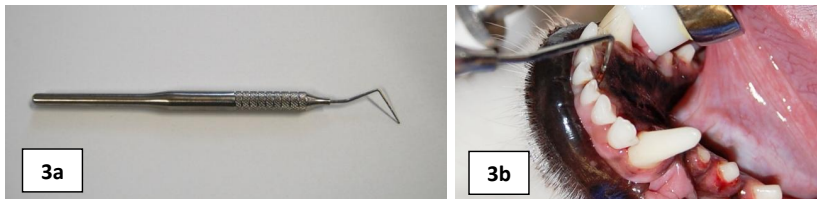


Abbildung 3a: Parodontalsonde (Zoetis)

Die Parodontalsonde besitzt an ihrer Spitze Markierungen zur Bestimmung der Tiefe einer parodontalen Tasche in Abständen von 1, 2, 3, 5, 7, 8, 9 und 10 mm.

Abbildung 3b: Untersuchung der Mundhöhle mittels Parodontalsonde

Jeder Zahn (in Abbildung 3b: Zahn 401) wird in seinem gingivalen Sulcus mit einer Parodontalsonde vollständig umfahren. So kann das Vorhandensein bzw. die Tiefe einer parodontalen Tasche ermittelt werden (Abbildungen mit freundlicher Genehmigung von Zoetis Deutschland GmbH).

Um die Tiefe einer parodontalen Tasche zu ermitteln, wird die Parodontalsonde entlang der Wurzelachse ohne Ausübung von Druck in den Sulcus gingivalis eingeführt, bis sie den Boden der Tasche erreicht. Die Taschentiefe entspricht der Entfernung vom Boden der Tasche bis zum freien Rand der Gingiva. Je nach Hunderasse und Zahn wird eine Sulkustiefe von 1-3 mm als physiologisch angesehen (EICKHOFF, 2005; GORREL, 2006).

Der Schweregrad einer Gingivitis wird mit Hilfe des modifizierten Gingivitisindex nach LÖE und SILNESS (1963) eingeteilt (siehe Tabelle 5). Bewertet werden Rötung und Schwellung der Gingiva sowie eine eventuell provozierte Blutung. Eine spontan oder bei Sondierung auftretende Blutung wird als pathologisch angesehen (LÖE und SILNESS, 1963; LÖE, 1967; EICKHOFF, 2005; GORREL, 2006). Das Vorliegen einer Gingivitis korreliert nicht zwangs-

läufig mit dem Vorliegen einer Parodontitis und umgekehrt (EICKHOFF, 2005; GORREL, 2006).

Tabelle 5: Modifizierter Gingivitisindex nach LÖE und SILNESS (1963) anhand des klinischen Befundes (LÖE und SILNESS, 1963; LÖE, 1967; EICKHOFF, 2005; GORREL, 2006)

| | |
|-------------------|--|
| Gingivitisindex 0 | Physiologische Gingiva |
| Gingivitisindex 1 | Geringgradige Gingivitis mit geringgradiger Rötung und geringgradiger Ödematisierung, keine Blutung beim Sondieren |
| Gingivitisindex 2 | Mittelgradige Gingivitis mit Rötung und Ödematisierung, Blutung beim Sondieren |
| Gingivitisindex 3 | Hochgradige Gingivitis mit hochgradiger Rötung und hochgradiger Ödematisierung, Spontanblutung |

Kommt es im Rahmen einer Parodontalerkrankung zum Abbau des Alveolarknochens, betrifft dies bei mehrwurzeligen Zähnen auch die Wurzelfurkation, die bei einer hochgradigen Parodontitis vollständig freiliegen kann (EICKHOFF, 2005; GORREL, 2006). Um die Furkation zu untersuchen, wird die Parodontalsonde horizontal in den Furkationsbereich eingeführt. Der Furkationsbefall wird in verschiedene Grade eingeteilt, bereits ein deutliches Ertasten der Furkation ist hierbei als pathologisch zu bewerten (siehe Tabelle 6; EICKHOFF, 2005).

Tabelle 6: Einteilung des Furkationsbefalls anhand klinischer Befunde in verschiedene Grade (EICKHOFF, 2005; GORREL, 2006)

| Furkationsbefall | Klinische Untersuchung |
|------------------|--|
| Grad 0 | Physiologische Furkation |
| Grad 1 | Furkation mittels Parodontalsonde ertastbar, Defekt nimmt weniger als 1/3 der Wurzelbreite ein |
| Grad 2 | Parodontalsonde in die Furkation einführbar, Defekt nimmt über 1/3 der Wurzelbreite ein |
| Grad 3 | Furkation liegt frei, eine Parodontalsonde kann von bukkal nach palatinal vollständig durch die Furkation geführt werden |

Zur radiologischen Untersuchung des Gebisses werden Schrägprojektionen der vier Kieferquadranten in der Halbwinkeltechnik angefertigt. Die Inzisivi werden durch Aufnahmen des rostralen Ober- bzw. Unterkiefers mit in die Mundhöhle eingelegter Platte dargestellt.

Die Beurteilung der radiologische Befunde orientiert sich an den Vorgaben von MIHALJEVIĆ (2010). Eine Abnahme der Höhe des Alveolarkammes, eine undeutlichere Abgrenzbarkeit oder Sklerosierung der Lamina dura, eine Vergrößerung oder ein röntgenologisch nicht mehr abgrenzbarer Parodontalspalt, horizontale oder vertikale Knochenresorption in der Furkation mehrwurzeliger Zähne und eine durch horizontalen Kieferknochenabbau zunehmende Freilegung der Zahnwurzeln werden als Zeichen einer parodontalen Erkrankung gewertet.

Der radiologische Parodontalindex (Tabelle 7) gibt den horizontalen Knochenverlust prozentual in Bezug auf die Zahnwurzellänge an.

Tabelle 7: Radiologischer Parodontalindex (EICKHOFF, 2005; MIHALJEVIĆ, 2010)

| Radiologischer Parodontalindex | Horizontaler Knochenverlust | Horizontaler Knochenverlust bezogen auf % der Wurzellänge |
|---------------------------------------|------------------------------------|--|
| 0 | - | - |
| 1 | Geringgradig | Unter 25 % |
| 2 | Mittelgradig | 25-50 % |
| 3 | Hochgradig | Über 50 % |

Die Dokumentation der Untersuchungsergebnisse erfolgt mit Hilfe eines Befundbogens, in den Angaben zum Signalement, pathologische Befunde der einzelnen Zähne, der parodontale und der kieferorthopädische Befund eingetragen werden (Befundbogen für Zahnpatienten für den Hund der Firma Pharmacia nach Dr. Dr. Fahrenkrug, 2001). Des Weiteren werden für jede Lokalisation die Parameter Sondierungstiefe und spontan oder bei Sondierung auftretende, gering- bis hochgradige Blutung vermerkt.

Der Schweregrad einer parodontalen Erkrankung bezieht sich jeweils auf einen einzigen Zahn. Ein Patient kann also an unterschiedlichen Zähnen unterschiedliche Grade der Parodontalerkrankung aufweisen (WOLF et al., 2005; AVDC, 2010). Für die Gesamt-

bewertung eines Patienten ist jedoch ein parodontales Staging nötig. Hierzu werden Ober- und Unterkiefer in jeweils drei Sektoren eingeteilt. Die beiden rostralen Sektoren beinhalten die Incisivi und Canini, die beiden mittleren Sektoren die Prämolaren und die beiden kaudalen Sektoren die Molaren. In jedem Sektor wird der schlechteste Befund zur Bewertung herangezogen (EICKHOFF, 2005).

Unter Berücksichtigung der klinischen und radiologischen Befunde aller Sektoren werden die untersuchten Hunde gemäß Tabelle 8 klassifiziert. Um in die Kontrollgruppe aufgenommen zu werden, müssen die Tiere als parodontitisfrei eingestuft werden (Parodontalerkrankung Grad 0). Um in die Patientengruppe aufgenommen zu werden, muss eine Parodontalerkrankung Grad 1 bis 4 vorliegen.

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 8: Einteilung in die verschiedenen Stadien der Parodontalerkrankung (EICKHOFF, 2005; WOLF et al., 2005; AVDC, 2010)

| Parodontalerkrankung | Klinischer Schweregrad | Klinische Untersuchung | Radiologie |
|-----------------------------|-------------------------------|---|--|
| Grad 0 | Klinischer Normalbefund | Keine Anzeichen von Gingivitis oder Parodontitis (Sondierungstiefe 1-3 mm) | Normalbefund |
| Grad 1 | Gingivitis | Gingivitis ohne Attachmentverlust, die Höhe und Struktur des Alveolarkammes stellen sich unauffällig dar (Sondierungstiefe über 2 mm) | Normalbefund |
| Grad 2 | Beginnende Parodontitis | Unter 25 % Attachmentverlust Messung entweder durch Sondierung mittels Parodontalsonde (Sondierungstiefe bis 5 mm) ODER radiologische Bestimmung der Entfernung des Alveolarkammes zur Zement-Schmelz-Grenze im Verhältnis zur Wurzellänge ODER maximal Furkationsbefall Grad 1 bei mehrwurzligen Zähnen | Geringgradiger horizontaler Knochenverlust |
| Grad 3 | Mittelgradige Parodontitis | 25-50 % Attachmentverlust Messung entweder durch Sondierung mittels Parodontalsonde (Sondierungstiefe bis 7 mm) ODER radiologische Bestimmung der Entfernung des Alveolarkammes zur Zement-Schmelz-Grenze im Verhältnis zur Wurzellänge ODER Furkationsbefall Grad 2 bei mehrwurzligen Zähnen | Mittelgradiger horizontaler Knochenverlust |
| Grad 4 | Fortgeschrittene Parodontitis | Über 50 % Attachmentverlust Messung entweder durch Sondierung mittels Parodontalsonde (Sondierungstiefe über 7 mm) ODER radiologische Bestimmung der Entfernung des Alveolarkammes zur Zement-Schmelz-Grenze im Verhältnis zur Wurzellänge ODER Furkationsbefall Grad 3 bei mehrwurzligen Zähnen | Hochgradiger horizontaler Knochenverlust |

3.1.5 Probenentnahme, Lagerung, Transport und Aufarbeitung

Die Patienten werden chronologisch durchnummeriert. Bei den Tieren der Versuchsgruppen 1-4 werden durch die Doktorandin 3 Gingivaproben mit einer Biopsiestanze⁷ (Durchmesser 3 mm) entnommen (siehe Abbildungen 4a und b). Die Biopsiestanze wird zwischen Margo gingivalis und mukogingivaler Grenzlinie platziert. Die Probenentnahme erfolgt, wenn möglich, jeweils sowohl im makroskopisch entzündlich veränderten (Lokalisation b) und im makroskopisch unveränderten Gewebe (Lokalisation a) sowie im Übergangsbereich (Lokalisation c). Bei den Tieren der Gruppe 0 wird je eine Gingivaprobe entnommen (Lokalisation a). Die Gabe eines Schmerzmittels, in der Regel aus der Gruppe der nicht-steroidalen Antiphlogistika, erfolgt unmittelbar nach der Probenentnahme.



Abbildung 4a: Einmal-Biopsie-Stanze, Durchmesser 3 mm, kai Europe GmbH, Solingen

Abbildung 4b: Entnahme einer Gingivaprobe auf Höhe des rechten Oberkiefercaninus mittels Biopsie-Stanze (Abbildungen mit freundlicher Genehmigung von kai Europe GmbH)

Die Gingivaproben werden einzeln in mit 10 %-igem Formalin gefüllte Eppendorfröhrchen verbracht. Diese werden mit einem Beschriftungssystem auf dem Röhrchen gekennzeichnet (z.B. H1a, wobei H1 für den Patienten steht und a für die Lokalisation) und für maximal 10 Tage gelagert, bevor sie an das Institut für Pathologie der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover versandt werden. Durch Mitarbeiter des dortigen Labors werden die Proben sagittal halbiert, maschinell entwässert und mit Hilfe eines Gewebeeinbettungsapparates in Paraffin eingebettet (Pathcentre, Thermo Electron, Dreieich). Im Anschluss werden die Proben zu Paraffinblöcken ausgegossen (TissueTec® TECTM 5, Einbettssystem, Vogel GmbH & Co.Kg., Gießen). Aus jeder einzelnen Lokalisation bzw. Gingivaprobe werden somit zwei Paraffin-

⁷ Einmal-Biopsie-Stanze, Durchmesser 3 mm, kai Europe GmbH, Solingen

blöcke gewonnen. Die Lagerung der Paraffinblöcke bis zur weiteren Bearbeitung durch die Doktorandin erfolgt bei Raumtemperatur.

Für die weitere Untersuchung werden durch die Doktorandin von den Paraffinblöcken 2 µm dicke Serienschnitte angefertigt (mindestens 22 Schnitte pro Block). Bei den Hunden der Gruppe 0 wird jeweils einer der vorhandenen Blöcke ausgewählt, bei den Hunden der Gruppen 1-4 wird jeweils einer der Blöcke aus der Lokalisation b ausgewählt. In einzelnen Fällen wird aufgrund von schlechterer Probenqualität alternativ ein Block aus der Lokalisation c ausgewählt. Die verbleibenden Paraffinblöcke werden asserviert.

Die Schnitte für die immunhistologische Färbung werden auf Superfrost®Plus Objektträger (Gerhard Menzel GmbH, Braunschweig) aufgezogen, die Schnitte für die HE-Färbung (Hämatoxylin / Eosin) auf Starfrost® Objektträger (Engelbrecht Medizin- und Labortechnik GmbH, Edermünde).

3.1.6 Histochemische Färbemethoden

3.1.6.1 HE (Hämatoxylin / Eosin) – Übersichtsfärbung

Die Färbung mit Hämatoxylin / Eosin erfolgt durch Mitarbeiter des Instituts für Pathologie der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover. Dies erfolgt nach einem standardisierten Laborprotokoll in einem automatisierten Färbecenter (Leica ST 4040, Leica Microsystems, Nussloch GmbH, Nussloch).

3.1.6.2 Immunhistologischer Nachweis

Die immunhistologische Färbung der Gingivaproben zum Nachweis von MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, TIMP-1 und TIMP-2 erfolgt durch die Doktorandin.

- Blocking Serum

Um unspezifische Antikörper-Bindungsstellen zu blockieren, wird Ziegennormalserum in einer Verdünnung von 1:5 in PBS (Phosphate Buffered Saline, phosphatgepufferte Salzlösung) eingesetzt. Ziegenvollblut wird in der Klinik für kleine Klauentiere der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover gewonnen.

- Primäre Antikörper

Es werden kommerziell erhältliche primäre Antikörper eingesetzt. Diese werden mit PBS, dem 1 %-iges BSA (Bovines Serumalbumin; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen) zugesetzt wird, verdünnt.

Die für den jeweiligen Antikörper optimale Verdünnung wird vor dem eigentlichen Versuch durch Verdünnungsreihen auf kaniner Gingiva und der jeweiligen Positivkontrolle ermittelt.

- Sekundäre Antikörper

Für die polyklonalen Kaninchen-anti-Mensch-Primärantikörper (MMP-3, MMP-8, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2) wird ein biotinlierter Ziege-anti-Kaninchen-Antikörper als Sekundärantikörper verwendet (Vector Laboratories, USA, BA 1000). Dieser wird 1:200 in PBS verdünnt.

Für den monoklonalen Maus-anti-Mensch-Primärantikörper gegen MMP-2 wird ein biotinlierter Ziege-anti-Maus-Antikörper als Sekundärantikörper verwendet (Vector Laboratories, USA, BA 9200). Dieser wird ebenfalls 1:200 in PBS verdünnt.

Eine Übersicht über die verwendeten Primär- und Sekundärantikörper findet sich in Tabelle 9 im Anhang.

- Tertiäre Antikörper

Als tertiäre Antikörper werden Peroxidase-gekoppelte Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplexe (Vector Laboratories, USA, Vectastain® Elite® ABC-Kit, PK 6100) verwendet. Pro Versuchsreihe werden hierzu 225 µl Avidin und 225 µl Biotin in 15 ml PBS gelöst. Der Tertiärantikörper wird mindestens 30 Minuten vor Gebrauch hergestellt, so dass sich der Avidin-Biotin-Komplex ausbilden kann.

3.1.7 Immunhistologisches Protokoll

Basierend auf der von HSU und Mitarbeitern (1981) beschriebenen Methode wird folgendes modifizierte Protokoll verwendet:

1. 2 µm dicke Schnitte auf Superfrost®Plus Objektträger werden wie folgt deparaffiniert und rehydriert:
 - 2 x Roticlear® je 2 min
 - Isopropanol 2 min
 - 96 % Ethanol 2 min

2. Hemmung der endogenen Peroxidase in 85 % Ethanol mit 0,5 % H_2O_2 , 30 min bei Raumtemperatur auf einem Magnetrührer.
3. Spülen der Schnitte: 4 x Leitungswasser, 1 x PBS.
4. Verbringen der Schnitte in CoverplatesTM und Sequenza®-Einsätze (Thermo Electron GmbH, Dreieich).
5. Einmaliges Spülen mit PBS.
6. Aufbringen von 120 µl Blockserum (Ziegennormalserum, Verdünnung 1:5 in PBS) auf alle Schnitte. Inkubation bei Raumtemperatur für 20 min. Auftragen von 120 µl des Primärantikörpers auf alle Schnitte mit Ausnahme der Negativkontrollen. Inkubation bei Raumtemperatur für 1-1,5 h.
7. Zweimaliges Spülen mit PBS.
8. Auftragen von 120 µl des Sekundärantikörpers auf alle Schnitte. Inkubation bei Raumtemperatur für 30 min.
9. Zweimaliges Spülen mit PBS.
10. Auftragen von 120 µl ABC-Reagenz auf alle Schnitte. Inkubation bei Raumtemperatur für 30 min.
11. Einmaliges Spülen mit PBS und Umsetzen der Schnitte in eine mit PBS-gefüllte Glas-küvette.
12. Inkubation der Schnitte in DAB, bei Raumtemperatur für 5 min auf dem Magnetrührer.
13. Dreimaliges Spülen mit Leitungswasser.
14. Färbung der Schnitte für 30 s in Hämalaun nach Mayer (Roth, Karlsruhe).
15. Bläuen der Schnitte in Leitungswasser, bis dieses klar bleibt.
16. Entwässern der Schnitte in einer aufsteigenden Alkoholreihe:
 - 70 % Ethanol, kurzes Schwenken
 - 96 % Ethanol, kurzes Schwenken
 - Isopropanol, 1 min
 - Essigsäure-n-Butylester (EBE), Verbleib bis zum Eindecken
17. Maschinelles Eindecken mittels Eindeckautomat (Promountor RCM 2000, Medite Medizintechnik, Burgdorf).

3.1.8 Positivkontrollen

Als Positivkontrolle für MMP-2, MMP-9, TIMP-1 und TIMP-2 dient das Zellpellet DH82, eine Makrophagen/Monozyten-Zell-Linie eines disseminierten histiozytären Sarkoms bei

einem Hund (WELLMAN et al., 1988; BARNES et al., 2000). Als Positivkontrolle für MMP-3 dient ein persistent mit dem Onderstepoort-Stamm des kaninen Staupevirus (Morbillivirus, Familie *Paramyxoviridae*) infiziertes DH82-Zellpellet (PAUL, 2005; PUFF et al., 2009). Als Positivkontrolle für MMP-8 dient ein kanines Spindelzellkarzinom der Mamma aus dem Sektionsgut des Instituts für Pathologie der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover (Fallnummer F/12/003098; KÖHRMANN et al., 2009).

Von allen Positivkontrollen wird ein HE-Schnitt angefertigt (siehe Abbildungen 5-7). Im Rahmen der immunhistologischen Untersuchung werden die Positivkontrollen wie die Gingivaschnitte behandelt.

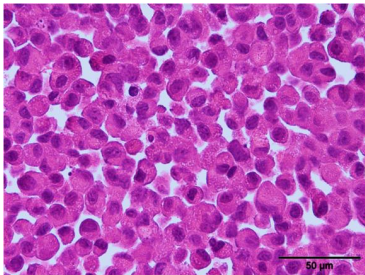


Abbildung 5: Das Zellpellet DH82, eine Makrophagen/Monozyten-Zell-Linie eines disseminierten histiozytären Sarkoms bei einem Hund, dient als Positivkontrolle für MMP-2, MMP-9, TIMP-1 und TIMP-2. HE-Färbung.

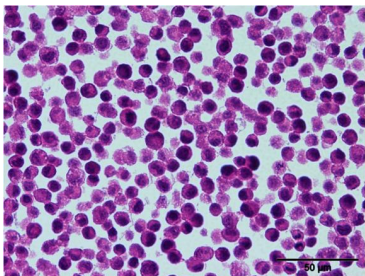


Abbildung 6: Ein persistent mit dem Onderstepoort-Stamm des kaninen Staupevirus infiziertes DH82-Zellpellet dient als Positivkontrolle für MMP-3. HE-Färbung.

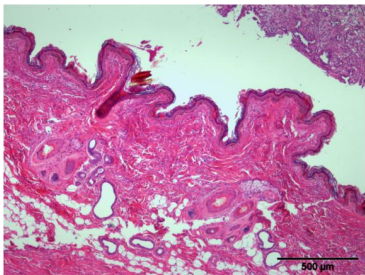


Abbildung 7: Ein kanines Spindelzellkarzinom der Mamma dient als Positivkontrolle für MMP-8. HE-Färbung.

3.1.9 Negativkontrollen

Zur Überprüfung der Spezifität der Färbung werden Negativkontrollen (Gingiva der Patienten und Kontrollgewebe) mitgeführt, auf denen der Primärantikörper ersetzt wird. Anstelle des Primärantikörpers gegen MMP-3, MMP-8, MMP-9, TIMP-1 und TIMP-2 werden die Schnitte mit Kaninchennormalserum (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen) inkubiert, anstelle des Primärantikörpers gegen MMP-2 werden die Schnitte mit Aszitesflüssigkeit von nicht-immunisierten Balb/cJ-Mäusen (Biologo, Dr. Hartmut Schultheiß e.K., Immunologische Produkte, Kronshagen, CL 8100) inkubiert. Die Verdünnung der Negativkontrollseren (Globulinfraktion) entspricht der Konzentration des Primärantikörpers oder liegt darunter. Zudem wird auf einem Schnitt des Kontrollgewebes kein Sekundärantikörper und auf einem weiteren Schnitt kein ABC-Komplex aufgetragen.

3.1.10 Lichtmikroskopische Auswertung

Die HE-gefärbten und immunhistologischen Präparate werden mit einem Binokular-Lichtmikroskop (Olympus CX40 Mikroskop, Olympus, Hamburg) ausgewertet. Dies erfolgt durch die Doktorandin unter Anleitung einer erfahrenen Pathologin. Die Ergebnisse werden in je einem Auswertungsbogen dokumentiert (siehe Anhang: Auswertungsbogen für HE-Schnitte und Auswertungsbogen für die Immunhistologie).

Anhand der HE-gefärbten Präparate wird die Qualität und Auswertbarkeit der Schnitte beurteilt. Jeder HE-Schnitt wird morphologisch beschrieben, die Art der infiltrierenden Entzündungszellen, der Grad der entzündlichen Veränderungen (sehr gering, gering-, mittel-, hochgradig) und der Kollagenfasergehalt in der subepithelialen und mittleren Lamina propria werden beurteilt. Auf Grundlage der erhobenen Befunde wird eine pathohistologische Diagnose gestellt.

In den immunhistologischen Präparaten werden **Anzahl** und **Signalintensität** der spezifischen Markierungen in 400facher Vergrößerung ermittelt. Hierbei werden folgende Einheiten betrachtet:

- Das Epithel der Gingiva, welches sich aus Stratum corneum, Stratum granulosum, Stratum spinosum und Stratum basale zusammensetzt, wird zunächst in seiner Gesamtheit betrachtet. Im Folgenden wird das Stratum basale des Epithels isoliert untersucht.

- Auch die Lamina propria wird zunächst in ihrer Gesamtheit betrachtet. Anschließend werden die infiltrierenden Entzündungszellen, die ortsständigen Fibroblasten bzw. Fibrozyten, die Gefäßendothelien und eventuell vorhandene perivaskuläre Infiltrate untersucht. Bezogen auf die infiltrierenden Entzündungszellen und die Fibroblasten / Fibrozyten werden zwei - ein subepitheliales und ein darunter gelegenes - Gesichtsfeld ausgewertet (subepitheliale Lamina propria und mittlere Lamina propria).
- Sofern im Schnitt vorhanden, wird der Alveolarknochenbereich ebenfalls zunächst in seiner Gesamtheit beurteilt und im Anschluss die in dieser Region befindlichen Entzündungszellen, Fibroblasten bzw. Fibrozyten, Osteoblasten und Osteoklasten sowie die Kollagenfasern untersucht.

Von jedem immunhistologischen Präparat wird eine Skizze zur Dokumentation der untersuchten drei bzw. vier Gesichtsfelder angefertigt.

Die **Zellzahl** (in einem Gesichtsfeld vorhandene Zahl der Zellen einer bestimmten Zellpopulation) wird am HE-Schnitt durch Schätzung erfasst und folgendermaßen angegeben:

0 = Zellart nicht vorhanden

1 = vereinzelt

2 = geringgradiger Zellgehalt (ggr)

3 = mittelgradiger Zellgehalt (mgr)

4 = hochgradiger Zellgehalt (hgr)

Die **Anzahl der immunhistologisch positiven Zellen** bezieht sich auf jeweils eine Zellpopulation. Sie wird durch Schätzung erfasst und folgendermaßen eingeteilt:

n.v. = Zellart nicht vorhanden

0 = 0 % der Zellen positiv

1 = 1-25 % der Zellen positiv

2 = 26-50 % der Zellen positiv

3 = 51-75 % der Zellen positiv

4 = über 75 % der Zellen positiv

Die **Intensität** der immunhistologischen Signale wird mittels einer Bewertungsskala, die von 0 bis 3 reicht, bestimmt:

n.v. = Zellart nicht vorhanden

0 = kein Signal

1 = schwaches Signal, geringgradige Braunfärbung

2 = mittelstarkes Signal, deutliche, mittelgradige Braunfärbung

3 = starkes Signal, sehr deutliche, hochgradige Braunfärbung

3.1.11 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten sowie die Erstellung der grafischen Abbildungen im Rahmen der Ergebnispräsentation erfolgte in Kooperation mit der AG Biomathematik und Datenverarbeitung des Fachbereichs Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität in Gießen. Die statistischen Auswertungen erfolgten mit dem Statistikprogrammpaket BMDP/Dynamic, Release 8.1 (DIXON, 1993). Die grafischen Darstellungen wurden mit der Statistiksoftware R⁸ sowie Excel® 2007 (Microsoft) erstellt.

Im Rahmen der mikroskopischen Auswertung konnte festgestellt werden, dass nicht alle immunhistologischen Präparate eine gleich starke Hintergrundfärbung aufwiesen. Es wurde in drei Färbeintensitäten unterschieden: Färbeintensität 1 bedeutet schwach gefärbt, Färbeintensität 2 mittelgradig gefärbt und Färbeintensität 3 stark gefärbt.

Um zu vermeiden, dass eine schwache bzw. starke Hintergrundfärbung des Präparats zu Fehlern bei der Beurteilung der Signalintensitäten führt, wurde zur Korrektur dieser Werte mit dem Programm BMDP6D eine Regressionsgerade ermittelt, um die Signalintensitäten bei schwacher und starker Färbung zu korrigieren. Auf Grundlage dieser Regressionsgeraden wurde den Signalintensitäten im Falle einer schwachen Färbeintensität 0,75098 hinzuaddiert, bzw. von den Signalintensitäten im Falle einer starken Färbeintensität 0,75098 subtrahiert.

In jenen Fällen, bei denen vor Korrektur eine Signalintensität von Null vorgelegen hat, wurde keine Korrektur durchgeführt, da kein Signal beobachtet worden war und somit eine Korrektur irreführend wäre.

Für jede **Signalintensität** konnte somit ein **unkorrigierter** und ein **korrigierter Wert** ermittelt werden.

Zur statistischen Auswertung der immunhistologischen Präparate wurde

- durch Multiplikation der **Anzahl positiver Zellen** und der **Signalintensität** (Epithel gesamt, Stratum basale, Endothelien, Alveolarknochenbereich faserassoziiert)

⁸ Statistiksoftware R: Free Software Foundation's GNU project, offizielle Homepage: <http://www.r-project.org>

- bzw. durch Multiplikation der **Zellzahl**, der **Anzahl positiver Zellen** und der **Signalintensität** (Lamina propria subepithelial gesamt, Lamina propria subepithelial Entzündungszellen, Lamina propria subepithelial Fibroblasten/Fibrozyten, mittlere Lamina propria gesamt, mittlere Lamina propria Entzündungszellen, mittlere Lamina propria Fibroblasten/Fibrozyten, perivaskuläre Infiltrate, Alveolarknochenbereich gesamt, Alveolarknochenbereich Entzündungszellen, Alveolarknochenbereich Fibrozyten/Fibroblasten)

ein **Score** gebildet. Dies erfolgte für jeden Patienten für alle Antikörper getrennt. Die Scorebildung erfolgte jeweils unter Verwendung der unkorrigierten Signalintensität (**Score S1**) und der korrigierten Signalintensität (**Score S2**).

3.1.11.1 Statistische Auswertung bezüglich der klinischen Einteilung in Grade der Parodontalerkrankung, des histologisch ermittelten Entzündungsgrades und des klinisch ermittelten Gingivitisindex

Zunächst wurde mit dem Programm BMDP4F eine zweidimensionale Häufigkeitsauszählung durchgeführt, um einen statistischen Zusammenhang zwischen der klinischen Einteilung der Patienten in 5 Gruppen (Parodontalerkrankung Grad 0–4) und dem histologisch feststellbaren Entzündungsgrad der Gingiva (Einteilung in gesunde Gingiva, geringgradige Entzündung, mittelgradige Entzündung, hochgradige Entzündung) zu überprüfen.

Im Anschluss wurde zur Untersuchung der Zusammenhänge zwischen den Scores S1 und S2 der MMPs und TIMPs an verschiedenen Lokalisationen

- mit der **klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen** (Parodontalerkrankung Grad 0-4),
- mit dem **histologisch ermittelten Entzündungsgrad** (gesunde Gingiva, geringgradige Entzündung, mittelgradige Entzündung, hochgradige Entzündung),
- und mit dem **klinisch ermittelten Gingivitisindex** (Gingivitisindex 0–3, im untersuchten Patientengut jedoch nur 0, 1 und 2 vorhanden)

der Rangkorrelationskoeffizient nach **Spearman (r_s)** und der zugehörige **p-Wert** (in Bezug auf die Abweichung vom Wert 0) ermittelt sowie die **Bonferroni-Holm-Prozedur** zur Berücksichtigung des multiplen Testens (α -Adjustierung) durchgeführt.

Die Berechnung der Rangkorrelationskoeffizienten nach **Spearman r_s** und der zugehörigen **p-Werte** erfolgte mit der asymptotischen Methode unter Verwendung des Programms BMDP3D sowohl für S1 als auch für S2. Durch Vergleich der Werte der Rangkorrelations-

koeffizienten kann beurteilt werden, ob die Korrelationen als verlässlich angesehen werden können. Ergibt sich sowohl bei S1 als auch bei S2 ein Zusammenhang mit $p \leq 0,05$, so wird dieser Zusammenhang als auffällig bezeichnet. Ergibt sich sowohl bei S1 als auch bei S2 kein Zusammenhang mit $p \leq 0,05$, liegt kein auffälliger Zusammenhang vor. Ergibt sich nur bei S1 oder nur bei S2 ein Zusammenhang mit $p \leq 0,05$, so wird dieser Zusammenhang als fraglich auffällig bezeichnet, da nicht ausgeschlossen werden kann, dass es durch die Hintergrundfärbung zu einer Verfälschung des Ergebnisses gekommen ist.

Hierbei wird das globale Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$ zugrunde gelegt, das heißt, Ergebnisse mit $p \leq 0,05$ werden als statistisch auffällig angesehen. Ergebnisse mit $0,05 < p < 0,06$ werden als knapp nicht statistisch auffällig angesehen.

Um die Berechnung des p-Wertes bei der Überprüfung des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman r_s auf Abweichungen vom Wert 0 auf der Basis der asymptotischen Statistik zu überprüfen, wurde für einige Beispiele die exakte Berechnung mit Hilfe des Programms StatXact (CYTEL-STUDIO-STATXACT, 2010) durchgeführt. Es ergab sich eine sehr gute Übereinstimmung, so dass aufgrund ihres deutlich geringeren Berechnungsaufwandes nachfolgend nur die asymptotischen p-Werte angegeben wurden.

Im Anschluss wurde aufgrund der großen Zahl an Variablen die **Bonferroni-Holm-Prozedur** (HOLM, 1979) durchgeführt, um bei der Untersuchung der Korrelationen bezogen auf die Scorewerte das globale Signifikanzniveau einzuhalten. Erst nach Durchführung dieser α -Adjustierung wird von statistischer Signifikanz gesprochen. Bei der Bonferroni-Holm-Prozedur wurden also, getrennt für S1 und S2, die p-Werte in aufsteigender Reihenfolge sortiert. Das globale Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$ wurde dividiert durch k. Bei k handelt es sich um die Zahl der untersuchten Variablen (84) minus die Zahl der bereits durchgeführten Divisionen. Im Anschluss wurde der so ermittelte neue α -Wert (α -Bonf.Holm) verglichen mit dem bereits vorhandenen p-Wert. War der bereits vorhandene p-Wert $\leq \alpha$ -Bonf.Holm, wurde dies als statistisch signifikant gewertet. Auch hier wurden die Ergebnisse für S1 und S2 miteinander verglichen (siehe oben). Ergibt sich sowohl bei S1 als auch S2 ein statistisch signifikanter Zusammenhang, so wird dies als belegt angesehen; ergibt sich sowohl bei S1 als auch S2 kein statistisch signifikanter Zusammenhang, so wird dies ebenfalls als belegt angesehen; ergibt sich hingegen nur bei S1 oder nur bei S2 ein statistisch signifikanter Zusammenhang, so wird das Ergebnis als fraglich angesehen, es kann nicht ausgeschlossen werden, dass es durch die Hintergrundfärbung zu einer Verfälschung des Ergebnisses gekommen ist.

Die Bonferroni-Holm-Prozedur dient der Einhaltung des globalen Signifikanzniveaus. Dieses wird hierbei auf alle untersuchten Variablen bezogen. Die Gesamtwahrscheinlichkeit, dass ein Zusammenhang fälschlicherweise als signifikant angesehen wird, ist dadurch $\leq 0,05$.

3.1.11.2 Statistische Auswertung bezüglich des Kollagenfasergehaltes

Bezüglich des Kollagenfasergehaltes an den Lokalisationen „subepitheliale Lamina propria“ und „mittlere Lamina propria“ konnte unterschieden werden in: Kollagenfasern ohne besonderen Befund und Kollagenfasergehalt verändert (aufgelockert, verdrängt, sklerosiert).

Somit kann in drei Kollagenfasergruppen unterschieden werden:

- Kollagenfasergehalt unverändert: Subepitheliale und mittlere Lamina propria ohne besonderen Befund
- Kollagenfasergehalt fokal verändert: Subepitheliale oder mittlere Lamina propria verändert
- Kollagenfasergehalt insgesamt verändert: Subepitheliale und mittlere Lamina propria verändert

Der Zusammenhang zwischen zunehmender Veränderung im Kollagenfasergehalt und dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad wurde mit dem Programm BMDP3D untersucht. Zur Untersuchung der Zusammenhänge zwischen der Veränderung im Kollagenfasergehalt und den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs an verschiedenen Lokalisationen wurden weitere Untersuchungen mit dem Programm BMDP3D in Form von Rangkorrelationsanalysen durchgeführt und im Anschluss ebenfalls die Bonferroni-Holm-Prozedur angewandt. Die Untersuchungen erfolgten jeweils für Score 1 und für Score 2 und wurden im Anschluss miteinander verglichen (siehe oben).

Um die Berechnung des p-Wertes bei der Überprüfung des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman r_s auf der Basis der asymptotischen Statistik zu überprüfen, wurde auch hier für einige Beispiele die exakte Berechnung mit Hilfe des Programms StatXact (CYTEL-STUDIO-STATXACT, 2010) durchgeführt. Es ergab sich eine sehr enge Übereinstimmung, so dass nachfolgend nur die asymptotischen p-Werte angegeben wurden.

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der klinischen Untersuchung

Insgesamt gingen die Daten von 57 Hunden in die Untersuchung ein. Entsprechend dem Patientengut der Klinik für Kleintiere, Chirurgie, der Justus-Liebig-Universität handelt es sich um ein heterogenes Kollektiv bezogen auf die Rasse, das Alter und das Geschlecht der Tiere.

Tabelle 4 im Anhang gibt eine Übersicht über die untersuchten Patienten.

Die klinische Untersuchung der Tiere (Adspektion der Mundhöhle, Untersuchung jedes Zahnes mittels Parodontalsonde und radiologische Untersuchung) ergibt bei 12 Tieren eine Parodontalerkrankung Grad 0, also einen klinischen Normalbefund. Bei 20 Tieren kann eine Parodontalerkrankung Grad 1 (Gingivitis) festgestellt werden, bei 11 Tieren eine Parodontalerkrankung Grad 2 (beginnende Parodontitis), bei 5 Tieren eine Parodontalerkrankung Grad 3 (mittelgradige Parodontitis) und bei 9 Tieren eine Parodontalerkrankung Grad 4 (fortgeschrittene Parodontitis).

Ein Gingivitisindex von 0 (physiologische Gingiva) kann im Rahmen der klinischen Untersuchung bei 11 Tieren festgestellt werden, ein Gingivitisindex von 1 liegt bei 9 Tieren vor und ein Gingivitisindex von 2 bei 37 Tieren. Ein Gingivitisindex von 3 kann bei keinem der untersuchten Tiere festgestellt werden. Anzumerken ist hierbei, dass bei der Bestimmung des Gingivitisindex ein Index für die gesamte Mundhöhle erhoben wurde. Falls jedoch innerhalb einer Mundhöhle fokale Abweichungen vom Gesamtbefund vorlagen, wurde dies ebenfalls vermerkt. Zur statistischen Auswertung wurde der Befund der untersuchten Lokalisation herangezogen.

4.2 Ergebnisse der histologischen Auswertung der HE-Schnitte

Zur Ermittlung einer pathohistologischen Diagnose wurde von jedem Patienten ein HE-gefärbtes Präparat beurteilt.

Eine physiologische Gingiva liegt bei 12 Hunden vor. Bei den verbleibenden 45 Hunden liegt eine gering- mittel- oder hochgradige, akute, subakute oder chronische, fokale, multifokale oder diffuse, eitrige oder lymphohistiozytäre Gingivitis vor.

Eine geringgradige Gingivitis kann bei 23 Tieren festgestellt werden, eine mittelgradige Gingivitis liegt bei 12 Tieren vor und eine hochgradige Gingivitis bei 10 Tieren.

Ein unveränderter Kollagenfasergehalt kann bei 22 Tieren festgestellt werden, fokale Veränderungen im Kollagenfasergehalt bei 16 Tieren und ein insgesamt veränderter Kollagenfasergehalt bei 19 Tieren.

Tabelle 10 enthält die Ergebnisse der klinischen Untersuchung sowie der histologischen Untersuchung der HE-Schnitte. Abbildung 8 stellt die HE-gefärbten Präparate einer physiologischen, einer mittel- und einer hochgradig entzündlich veränderte Gingiva vergleichend dar.

Tabelle 10: Übersicht über die klinische Untersuchung und die histologische Untersuchung der HE-Schnitte

| | |
|--|--|
| Klinische Untersuchung: Grad der Parodontalerkrankung | Grad 0: 12 Hunde Grad 1: 20 Hunde Grad 2: 11 Hunde Grad 3: 5 Hunde Grad 4: 9 Hunde |
| Klinische Untersuchung: Gingivitisindex | Gingivitisindex 0: 11 Hunde Gingivitisindex 1: 9 Hunde Gingivitisindex 2: 37 Hunde Gingivitisindex 3: - |
| Histologische Untersuchung der HE-Schnitte | Physiologische Gingiva: 12 Hunde Geringgradige Gingivitis: 23 Hunde Mittelgradige Gingivitis: 12 Hunde Hochgradige Gingivitis: 10 Hunde Kollagenfasergehalt unverändert: 22 Hunde Kollagenfasergehalt fokal verändert: 16 Hunde Kollagenfasergehalt insgesamt verändert: 19 Hunde |

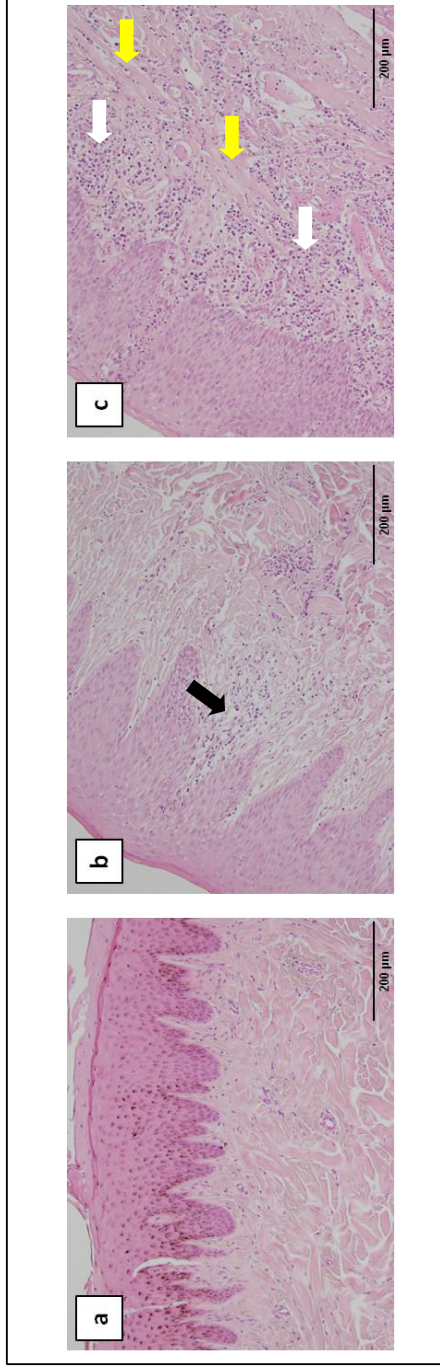


Abbildung 8: Im Vergleich dargestellt sind a) eine physiologische Gingiva mit unverändertem Kollagenfasergehalt, b) eine mittelgradig entzündete Gingiva mit fokaler Verdrängung bzw. Auflockerung der Kollagenfasern durch infiltrierende mononukleäre Entzündungszellen (schwarzer Pfeil) und c) eine hochgradig entzündete Gingiva mit hochgradiger, generalisierter Verdrängung der Kollagenfasern (gelbe Pfeile) durch eine hochgradige, diffuse Infiltration mit vorwiegend mononukleären Entzündungszellen (weiße Pfeile). HE-Färbung.

4.3 Charakteristik der immunhistologischen Signale von MMP-2, -3, -8 und -9, TIMP-1 und TIMP-2

- Charakteristik des immunhistologischen Signals von MMP-2

Als Positivkontrolle für MMP-2 dient das DH82-Zellpellet. Hier zeigt sich im immunhistologischen Schnitt ein deutliches, feingranuläres bis grobkörniges, zytoplasmatisches Signal in ca. 80-90 % der Zellen (siehe Abbildung 9).

In den Gingivaschnitten stellt sich ein feingranuläres, zytoplasmatisches Signal dar (siehe Abbildung 11). Bei zwei Präparaten (H31 und H36) fällt eine generalisiert sehr geringe Färbintensität auf. Bei drei Präparaten (H19, H34 und H46) findet sich im Bereich von Quetschartefakten eine extrazelluläre Reaktion.

In allen Negativkontrollen zeigt sich kein spezifisches Signal. Die Abbildung 10 zeigt exemplarisch die Negativkontrolle zur immunhistologischen Darstellung von MMP-2 im DH82-Zellpellet. Das gleiche Bild zeigt sich in den Negativkontrollen von MMP-9, TIMP-1 und TIMP-2. Die Abbildung 12 zeigt exemplarisch die Negativkontrolle zur immunhistologischen Darstellung von MMP-2 in kaniner gingivaler Schleimhaut. Das gleiche Bild zeigt sich in den Negativkontrollen von MMP-3, MMP-8, MMP-9, TIMP-1 und TIMP-2.

- Charakteristik des immunhistologischen Signals von MMP-3

Als Positivkontrolle für MMP-3 dient das persistent infizierte DH82-Zellpellet. Hier stellt sich im immunhistologischen Schnitt ein feingranuläres, teilweise diffus verwaschenes, zytoplasmatisches Signal in ca. 80 % der Zellen dar (siehe Abbildung 13).

In den Gingivaschnitten zeigt sich ein klumpiges, zytoplasmatisches Signal (siehe Abbildung 15), auffällig ist jedoch bei über der Hälfte der Präparate eine davon abgrenzbare teilweise dunkle Färbung der Zellkerne von Epithel, Endothelien, Entzündungszellen und Fibrozyten bzw. Fibroblasten.

Bei einem Präparat (H40) fällt eine generalisiert sehr geringe Färbintensität auf und bei einem weiteren Präparat (H30) findet sich im Bereich eines Quetschartefakts eine extrazelluläre Reaktion.

In allen Negativkontrollen zeigt sich kein spezifisches Signal (siehe Abbildung 14).

- Charakteristik des immunhistologischen Signals von MMP-8

Als Positivkontrolle für MMP-8 dient ein kanines Spindelzellkarzinom der Mamma (siehe Abbildung 16). Hier zeigt sich im immunhistologischen Schnitt ein deutliches positives Sig-

nal der tubulären Epithelien sowie einzelner Zellen (Gefäßendothelien, einzelne Entzündungszellen, Fibrozyten, intraduktale Tumorzellen).

In den Gingivaschnitten stellt sich ein feingranuläres, zytoplasmatisches Signal dar (siehe Abbildung 18). Bei vier Präparaten (H17, H40, H42 und H48) fällt eine generalisiert sehr geringe Färbeintensität auf.

In allen Negativkontrollen zeigt sich kein spezifisches Signal (siehe Abbildung 17).

- Charakteristik des immunhistologischen Signals von MMP-9

Als Positivkontrolle für MMP-9 dient das DH82-Zellpellet. Hier zeigt sich im immunhistologischen Schnitt ein feingranuläres, teilweise diffus verwaschenes, zytoplasmatisches Signal in ca. 80 % der Zellen (siehe Abbildung 19).

In den Gingivaschnitten stellt sich ein klumpiges, zytoplasmatisches Signal dar (siehe Abbildung 20), auffällig ist jedoch bei 2/3 der Präparate eine davon abgrenzbare, teilweise dunkle Färbung der Zellkerne des Epithels und / oder der Endothelien. Bei ca. ¼ der Präparate fällt zudem oder auch unabhängig davon eine deutliche Hintergrundfärbung auf.

Bei fünf Präparaten (H4, H19, H40, H51 und H55) findet sich generalisiert eine sehr geringe Färbeintensität.

In allen Negativkontrollen zeigt sich kein spezifisches Signal.

- Charakteristik des immunhistologischen Signals von TIMP-1

Als Positivkontrolle für TIMP-1 dient das DH82-Zellpellet. Hier zeigt sich im immunhistologischen Schnitt ein schwaches, feingranuläres, zytoplasmatisches Signal in ca. 80 % der Zellen (siehe Abbildung 21).

In den Gingivaschnitten stellt sich ein feingranuläres, zytoplasmatisches Signal dar (siehe Abbildung 22). Bei 11 Präparaten (H12, H19, H22, H24, H30, H37, H40, H43, H51, H53 und H58) fällt eine generalisiert sehr geringe Färbeintensität auf. Bei Patient H43 findet sich zudem im Bereich der mittleren Lamina propria ein Areal mit Kollagenfasernekrosen. An dieser Stelle ist das immunhistologische Signal extrazellulär lokalisiert.

In allen Negativkontrollen zeigt sich kein spezifisches Signal.

- Charakteristik des immunhistologischen Signals von TIMP-2

Als Positivkontrolle für TIMP-2 dient das DH82-Zellpellet. Hier zeigt sich im immunhistologischen Schnitt ein feingranuläres, teilweise diffus verwaschenes, zytoplasmatisches Signal in ca. 80 % der Zellen (siehe Abbildung 23).

In den Gingivaschnitten stellt sich ein feingranuläres, zytoplasmatisches Signal dar (siehe Abbildung 24), auffällig ist jedoch bei ca. der Hälfte der Präparate eine davon abgrenzbare teilweise dunkle Färbung der Zellkerne von Endothelien, Entzündungszellen, Fibrozyten bzw. Fibroblasten und etwas seltener auch des Epithels.

Bei fast einem Viertel der Präparate (H12, H14, H15, H16, H19, H23, H30, H36, H40, H52, H53 und H58) findet sich generalisiert eine sehr geringe Färbeintensität.

Neun Präparate zeigen eine deutliche Hintergrundfärbung (H20, H24, H25, H33, H34, H42, H49, H51 und H54), wobei bei Patient H54 zudem Fragmente von Kollagenfasern in der mittleren Lamina propria eine starke, extrazelluläre Reaktion zeigen.

In allen Negativkontrollen findet sich kein spezifisches Signal.

4.4 Reaktion von Osteoblasten und Osteoklasten, faserassoziierte Reaktionen

Osteoblasten bzw. Osteoklasten finden sich in den angefertigten Präparaten nur sehr sporadisch, was vermutlich auf die Art der Probenentnahme zurückzuführen ist. Bezogen auf die 57 untersuchten Patienten und sechs Antikörper finden sich Osteoblasten nur in einem HE-Präparat, diese zeigen bei der immunhistologischen Untersuchung von MMP-9 eine positive Reaktion. Osteoklasten finden sich in acht HE-Präparaten. Eine positive immunhistologische Reaktion eines Osteoklasten kann in nur drei Präparaten festgestellt werden (jeweils einmal bei der Untersuchung von MMP-2, -8 und -9), in fünf Fällen sind die Osteoklasten zwar im HE-Schnitt zu finden, im immunhistologischen Präparat aber nicht nachvollziehbar oder es kann aufgrund von durch die Art der Probennahme bedingten Quetschartefakten nicht festgestellt werden, ob die Osteoklasten eine positive oder negative Reaktion zeigen. Aus diesem Grund wurde bei diesen Zellpopulationen auf eine weitere statistische Auswertung verzichtet. Bei der Untersuchung des Alveolarknochenbereichs wurden zudem faserassoziierte, also extrazelluläre Signale vermerkt.

Abbildung 9: Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von MMP-2 im DH82-Zellpellet. Es zeigt sich ein deutliches, feingranuläres bis grobkörniges, braunes zytoplasmatisches Signal in ca. 80-90 % der Zellen (schwarzer Pfeil).

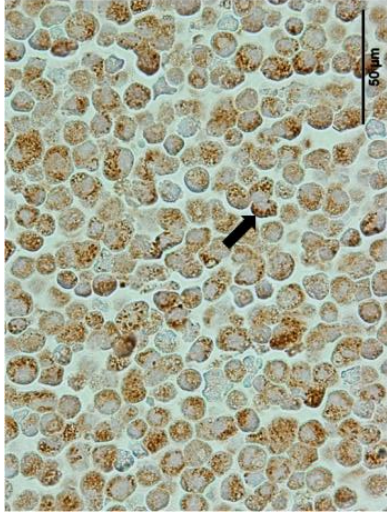


Abbildung 10: Exemplarische Darstellung einer Negativkontrolle der immunhistologischen Darstellung (ABC-Methode) von MMP-2 im DH82-Zellpellet. Es zeigt sich kein spezifisches Signal. Das gleiche Bild zeigt sich in den Negativkontrollen von MMP-9, TIMP-1 und TIMP-2.

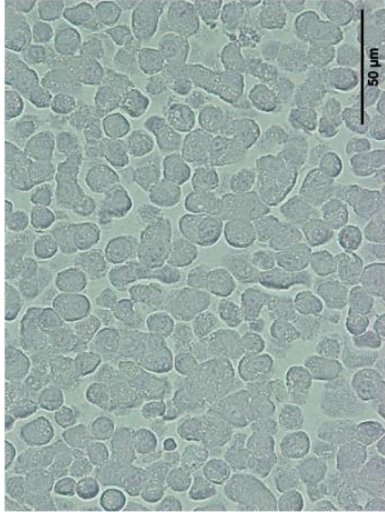


Abbildung 11: Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von MMP-2 in hochgradig entzündeter gingivaler Schleimhaut. Es zeigt sich ein feingranuläres, braunes zytoplasmatisches Signal in den dargestellten mononukleären Entzündungszellen (schwarze Pfeile).

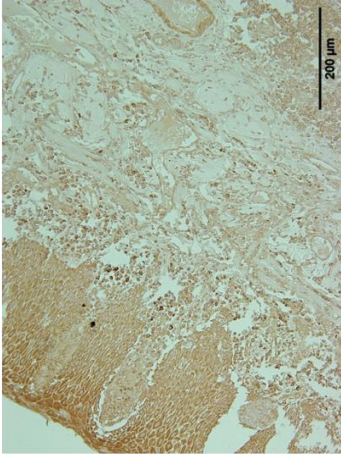
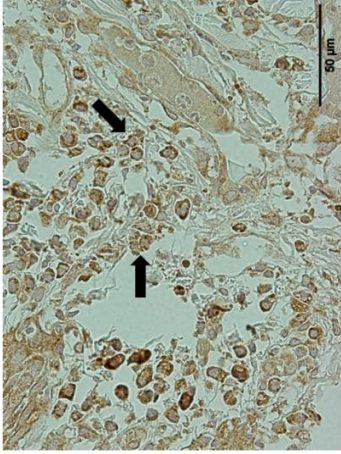
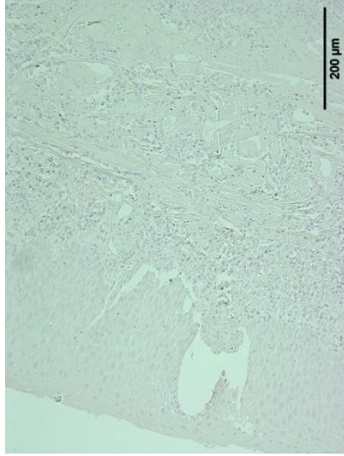
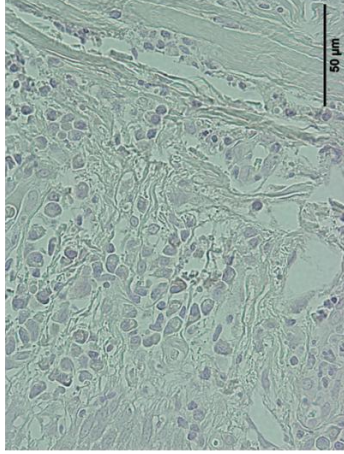


Abbildung 12: Exemplarische Darstellung einer Negativkontrolle der immunhistologischen Darstellung (ABC-Methode) von MMP-2 in hochgradig entzündeter gingivaler Schleimhaut. Es zeigt sich kein spezifisches Signal. Das gleiche Bild zeigt sich in den Negativkontrollen von MMP-3, MMP-8, MMP-9, TIMP-1 und TIMP-2.



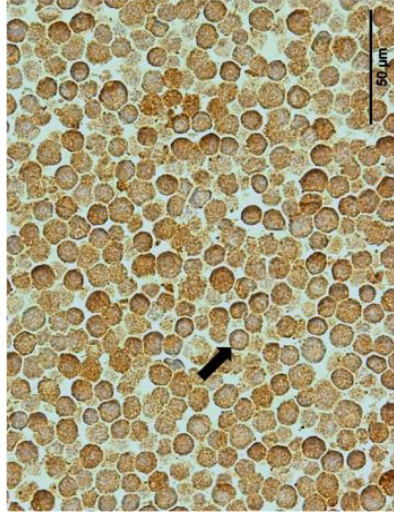


Abbildung 13: Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von MMP-3 im persistently infizierten DH82-Zellpellet. Es zeigt sich ein feingranuläres, teilweise diffus verwaschenes, braunes zytoplasmatisches Signal in ca. 80 % der Zellen (schwarzer Pfeil).

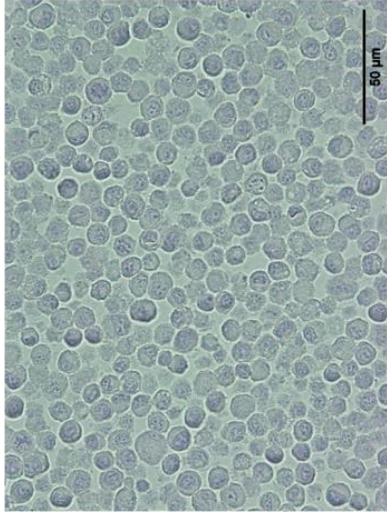


Abbildung 14: Negativkontrolle der immunhistologischen Darstellung (ABC-Methode) von MMP-3 im persistently infizierten DH82-Zellpellet. Es zeigt sich kein spezifisches Signal.

Abbildung 15: Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von MMP-3 in hochgradig entzündeter gingivaler Schleimhaut. Es zeigt sich ein klumpiges, braunes zytoplasmatisches Signal in den dargestellten mononukleären Entzündungszellen (schwarze Pfeile).

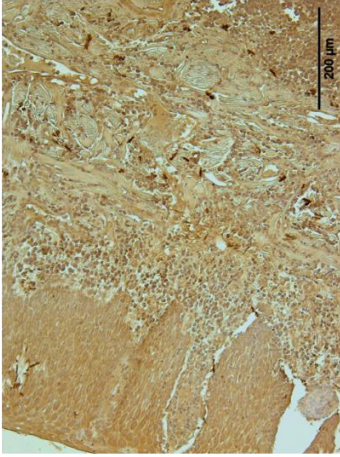
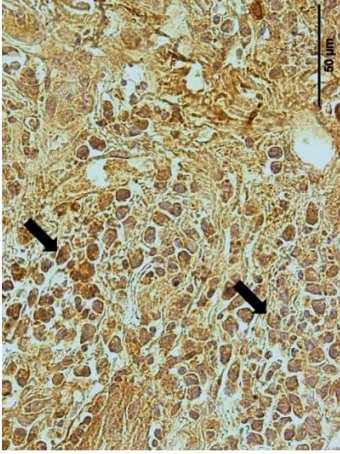


Abbildung 16: Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von MMP-8 in einem kaninen Spindelzellkarzinom der Mamma. Es zeigt sich ein deutliches positives, braunes Signal der tubulären Epithelien (schwarzer Pfeil).

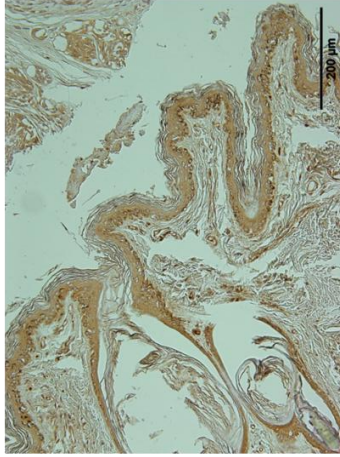
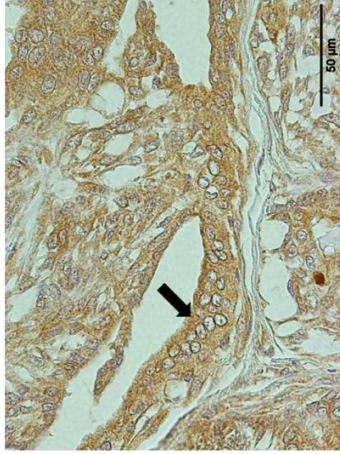


Abbildung 17: Negativkontrolle der immunhistologischen Darstellung (ABC-Methode) von MMP-8 in einem kaninen Spindelzellkarzinom der Mamma. Es zeigt sich kein spezifisches Signal. Im Epithel sind dunkelbraune Melaninpigmente vorhanden.

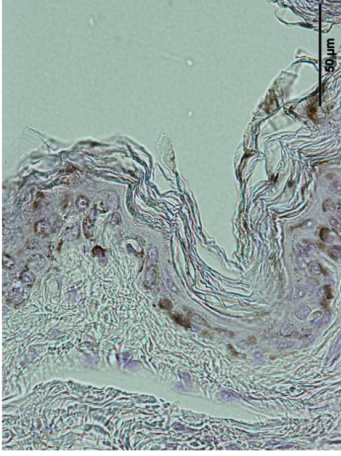
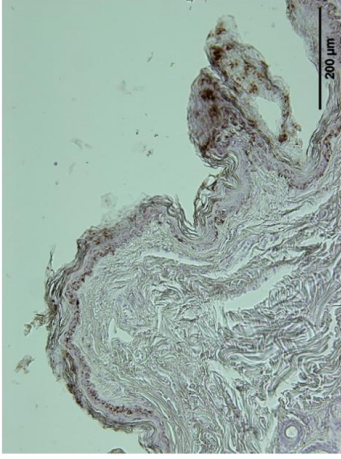
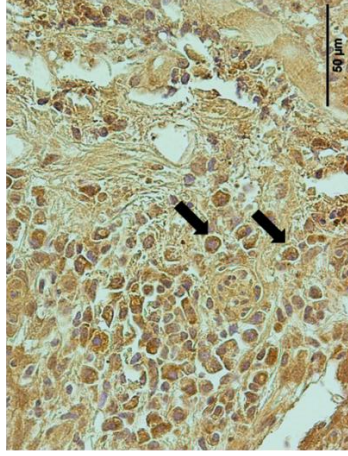
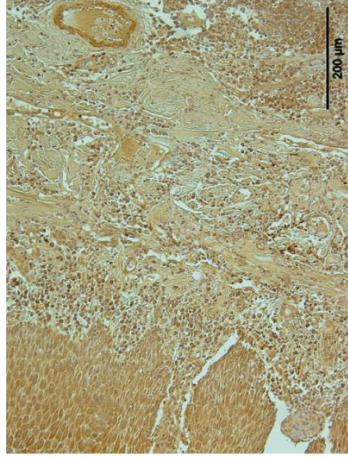


Abbildung 18: Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von MMP-8 in hochgradig entzündeter gingivaler Schleimhaut. Es zeigt sich ein feingranuläres, braunes zytoplasmatisches Signal in den dargestellten mononukleären Entzündungszellen (schwarze Pfeile).



4 ERGEBNISSE

Abbildung 19: Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von MMP-9 im DH82-Zellpellet. Es zeigt sich ein feingranuläres, teilweise diffus verwachsenes, braunes zytoplasmatisches Signal in ca. 80 % der Zellen (schwarzer Pfeil),

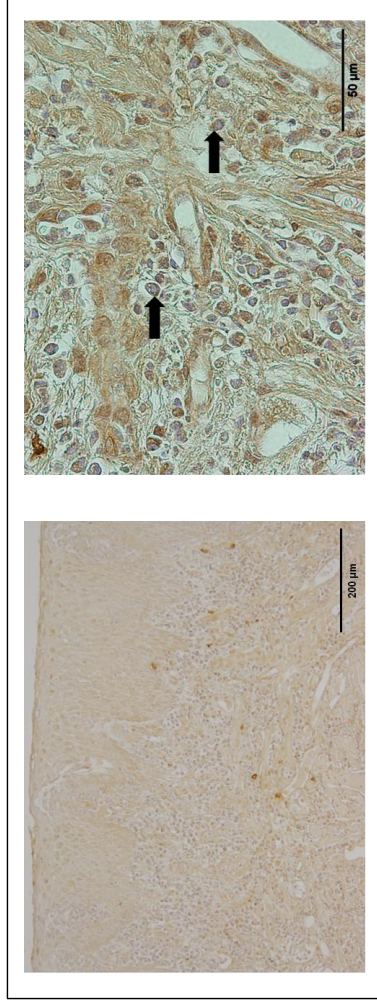
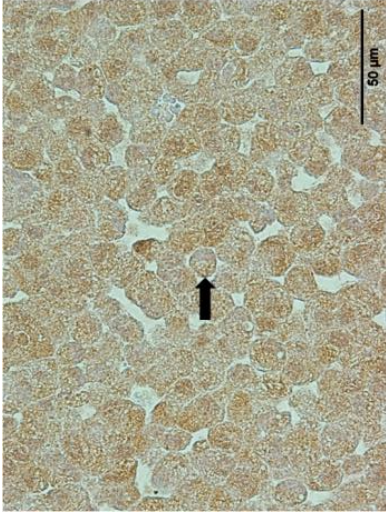


Abbildung 20: Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von MMP-9 in hochgradig entzündeter gingivaler Schleimhaut. Es zeigt sich ein klumpiges, braunes zytoplasmatisches Signal in den dargestellten mononukleären Entzündungszellen (schwarze Pfeile),

4 ERGEBNISSE

Abbildung 21: Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von TIMP-1 im DH82-Zellpellet. Es zeigt sich ein schwaches, feingranuläres, braunes zytoplasmatisches Signal in ca. 80 % der Zellen (schwarzer Pfeil).

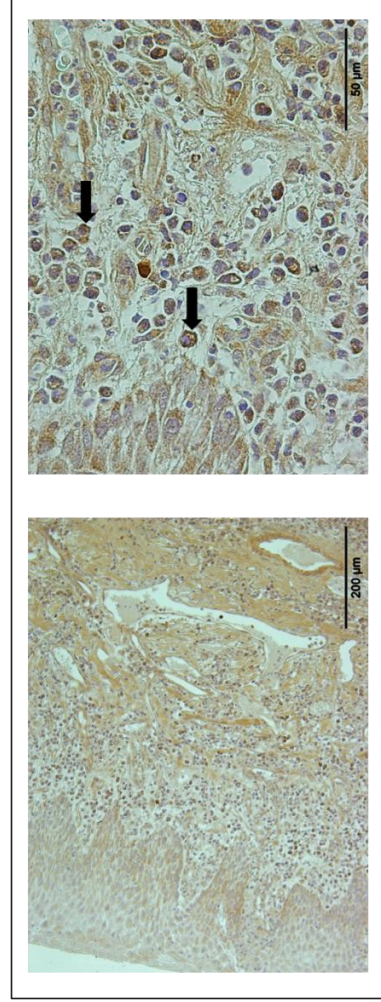
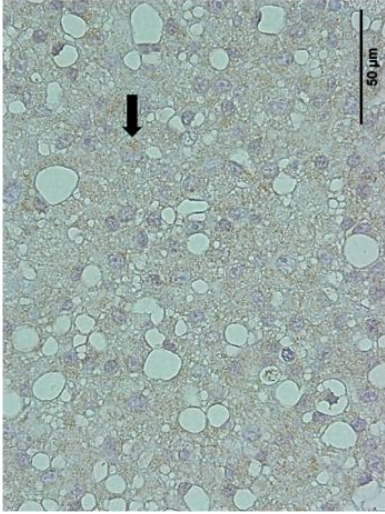


Abbildung 22: Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von TIMP-1 in hochgradig entzündeter gingivaler Schleimhaut. Es zeigt sich ein feingranuläres, braunes zytoplasmatisches Signal in den dargestellten mononukleären Entzündungszellen (schwarze Pfeile).

4 ERGEBNISSE

Abbildung 23: Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von TIMP-2 im DH82-Zellpellet. Es zeigt sich ein feingranuläres, teilweise diffus verwaschenes, braunes zytoplasmatisches Signal in ca. 80 % der Zellen (schwarzer Pfeil).

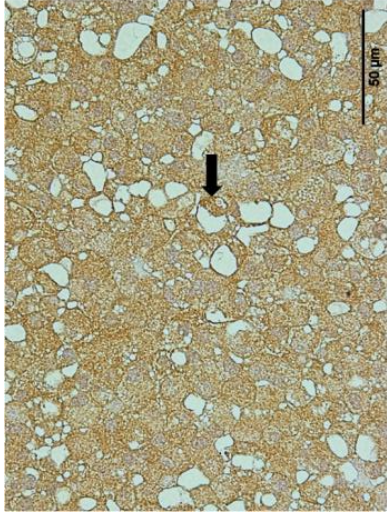
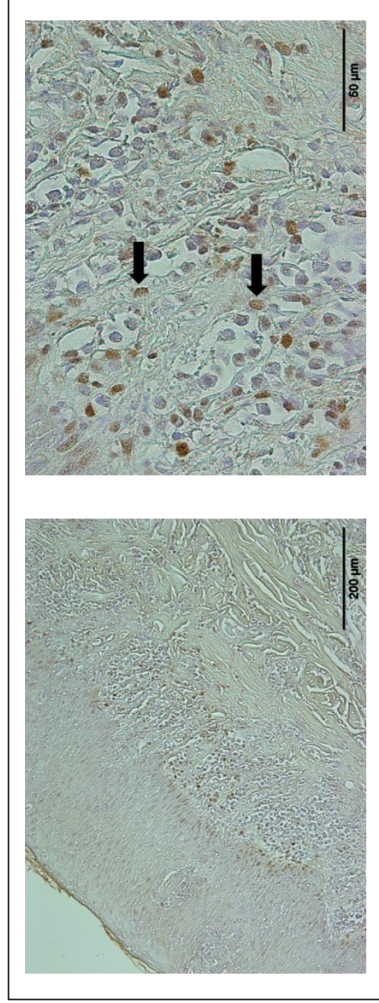


Abbildung 24: Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von TIMP-2 in hochgradig entzündeter gingivaler Schleimhaut. Es zeigt sich ein feingranuläres, braunes zytoplasmatisches Signal in den dargestellten mononukleären Entzündungszellen (schwarze Pfeile).



Zu den Abbildungen 9–24:

Bei den Abbildungen 11, 12, 15, 16, 17, 18, 20, 22 und 24 wird jeweils eine Übersichtsaufnahme (100fache Vergrößerung, Messbalken 200 μm) und eine Aufnahme in 400facher Vergrößerung (Messbalken 50 μm) gezeigt. Die Beurteilung der immunhistologischen Präparate wurde bei 400facher Vergrößerung durchgeführt. Bei den Abbildungen 9, 10, 13, 14, 19, 21 und 23 handelt es sich ebenfalls um Aufnahmen in 400facher Vergrößerung (Messbalken 50 μm).

4.5 Ergebnisse der immunhistologischen Untersuchungen bezüglich der klinischen Einteilung in Grade der Parodontalerkrankung, des histologisch ermittelten Entzündungsgrades und des klinisch ermittelten Gingivitisindex

Die mit dem Programm BMDP4F durchgeführte zweidimensionale Häufigkeitsauszählung ergab einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen der klinischen Einteilung der Patienten gemäß dem Grad der Parodontalerkrankung und dem histologischen Entzündungsgrad. Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman r_s betrug hierbei 0,5484 mit einem p-Wert $< 0,0001$. Abbildung 25 zeigt die grafische Darstellung der zweidimensionalen Häufigkeitsauszählung.

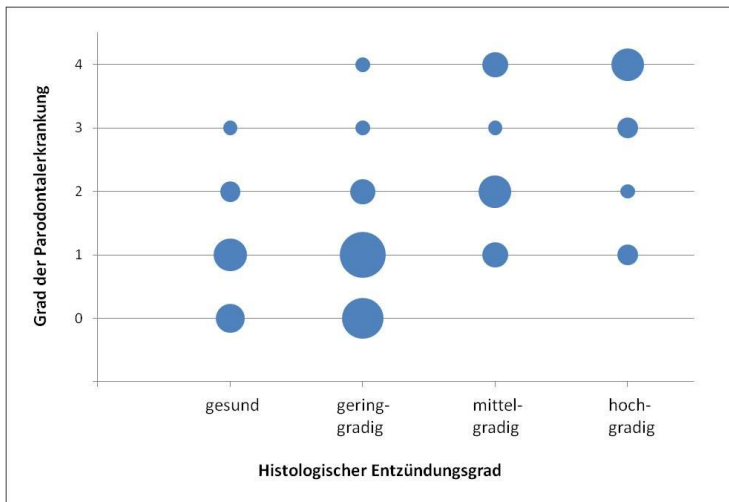


Abbildung 25: Grafische Darstellung der zweidimensionalen Häufigkeitsauszählung zwischen dem histologischen Entzündungsgrad und der klinischen Einteilung in Grade der Parodontalerkrankung

Legende zu Abbildung 25:

Die Fläche der Kreise repräsentiert die Anzahl der Tiere, die jeweils einen bestimmten histologischen Entzündungsgrad (x-Achse) und einen bestimmten klinischen Grad der Parodontalerkrankung (y-Achse) aufweisen.

Es konnten durch mit dem Programm BMDP3D durchgeführte Rangkorrelationsanalysen und die anschließend durchgeführte Bonferroni-Holm-Prozedur folgende statistisch signifikante Zusammenhänge ermittelt werden:

4.5.1 MMP-2

Es besteht ein statistisch signifikanter, positiver Zusammenhang zwischen dem immunhistologischen Signal von MMP-2 in Entzündungszellen der subepithelialen und mittleren Lamina propria und dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad.

4.5.2 MMP-3

Es besteht ein statistisch signifikanter, positiver Zusammenhang zwischen dem immunhistologischen Signal von MMP-3 in Entzündungszellen der subepithelialen Lamina propria und dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad.

4.5.3 MMP-8

Es besteht ein statistisch signifikanter, positiver Zusammenhang zwischen dem immunhistologischen Signal von MMP-8 in der subepithelialen Lamina propria in ihrer Gesamtheit sowie in Entzündungszellen der subepithelialen Lamina propria und dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad.

4.5.4 MMP-9

Es besteht ein statistisch signifikanter, positiver Zusammenhang zwischen dem immunhistologischen Signal von MMP-9 in der subepithelialen und mittleren Lamina propria in ihrer Gesamtheit sowie in Entzündungszellen der subepithelialen und mittleren Lamina propria und dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad.

4.5.5 TIMP-1

Statistisch signifikante Zusammenhänge konnten nicht ermittelt werden.

4.5.6 TIMP-2

Statistisch signifikante Zusammenhänge konnten nicht ermittelt werden.

Eine graphische Darstellung der statistisch signifikanten Untersuchungsergebnisse findet sich in Form von Box-and-Whisker-Plots in den Abbildungen 26–34.

Desweiteren konnten verschiedene statistisch auffällige, aber im Rahmen der Bonferroni-Holm-Prozedur nicht signifikante Zusammenhänge festgestellt werden, sowie verschiedene knapp nicht auffällige oder fraglich auffällige Zusammenhänge. Bei einer Reihe von Untersuchungen konnte zudem kein Zusammenhang festgestellt werden.

Statistisch signifikante Zusammenhänge bestehen lediglich zwischen dem immunhistologischen Signal der MMPs und dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad. Mit der klinischen Einteilung in Gruppen gemäß dem Grad der Parodontalerkrankung konnten im Rahmen der statistischen Auswertung einige auffällige und fraglich auffällige statistische Zusammenhänge festgestellt werden. Mit dem klinisch ermittelten Gingivitisindex bestehen ebenfalls nur auffällige, knapp nicht auffällige und fraglich auffällige statistische Zusammenhänge.

Bei der Untersuchung von faserassoziierten, also extrazellulären Signalen im Alveolarknochenbereich konnten im Rahmen der statistischen Auswertung keine statistisch signifikanten Zusammenhänge festgestellt werden.

Eine Übersicht über sämtliche Untersuchungsergebnisse findet sich in den Tabellen 11–21 im Anhang.

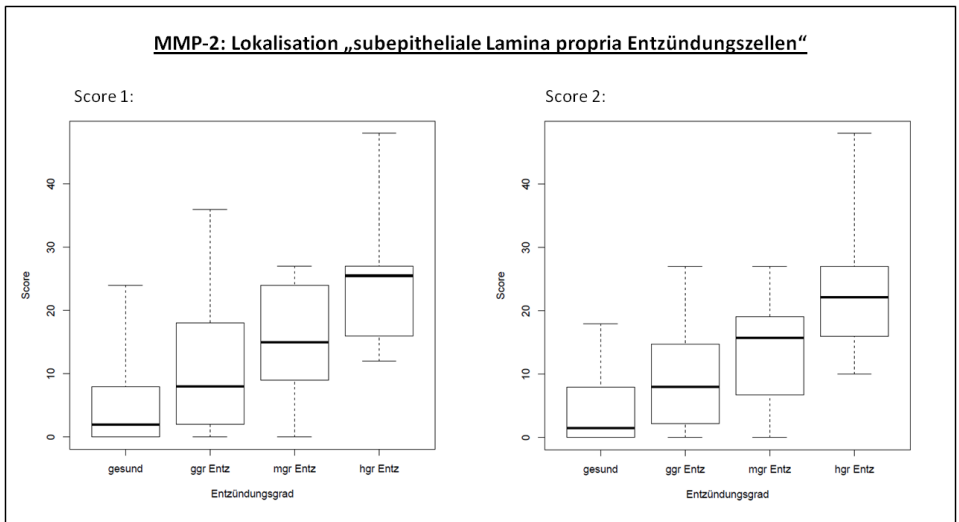


Abbildung 26: Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-2 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen“ und dem pathohistologischen Entzündungsgrad

Legende zu Abbildung 26:

ggr Entz = geringgradige Entzündung; mgr Entz = mittelgradige Entzündung; hgr Entz = hochgradige Entzündung

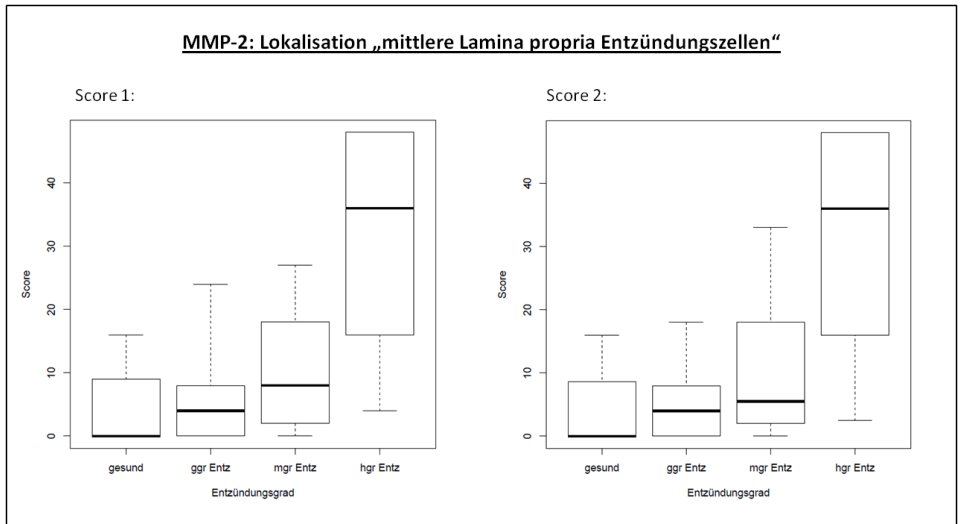


Abbildung 27: Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-2 an der Lokalisation „mittlere Lamina propria Entzündungszellen“ und dem pathohistologischen Entzündungsgrad

Legende zu Abbildung 27:

ggr Entz = geringgradige Entzündung; mgr Entz = mittelgradige Entzündung; hgr Entz = hochgradige Entzündung

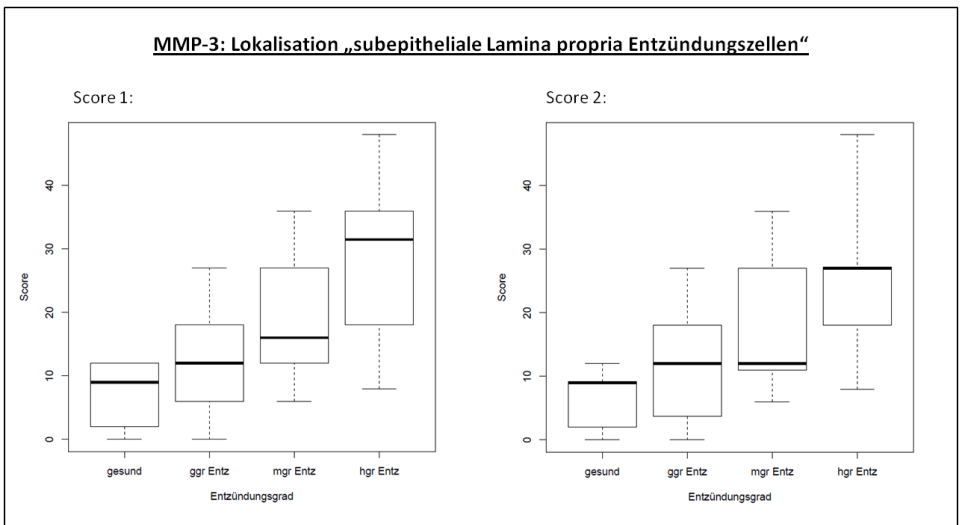


Abbildung 28: Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-3 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen“ und dem pathohistologischen Entzündungsgrad

Legende zu Abbildung 28:

ggr Entz = geringgradige Entzündung; mgr Entz = mittelgradige Entzündung; hgr Entz = hochgradige Entzündung

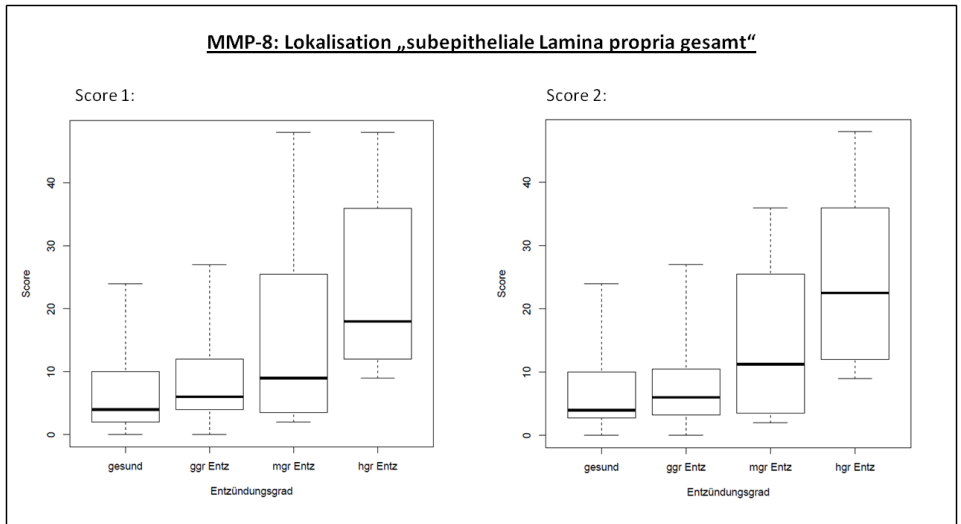


Abbildung 29: Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-8 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria gesamt“ und dem pathohistologischen Entzündungsgrad

Legende zu Abbildung 29:

ggr Entz = geringgradige Entzündung; mgr Entz = mittelgradige Entzündung; hgr Entz = hochgradige Entzündung

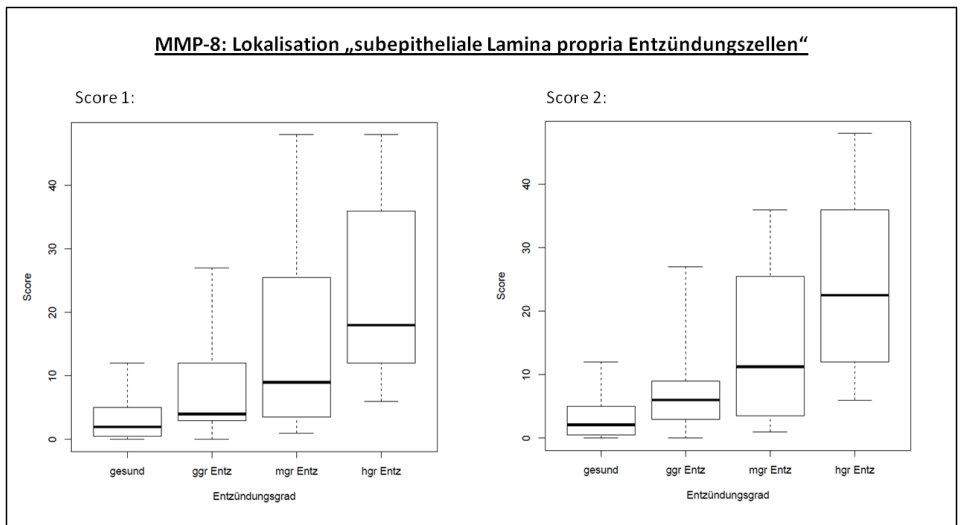


Abbildung 30: Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-8 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen“ und dem pathohistologischen Entzündungsgrad

Legende zu Abbildung 30:

ggr Entz = geringgradige Entzündung; mgr Entz = mittelgradige Entzündung; hgr Entz = hochgradige Entzündung

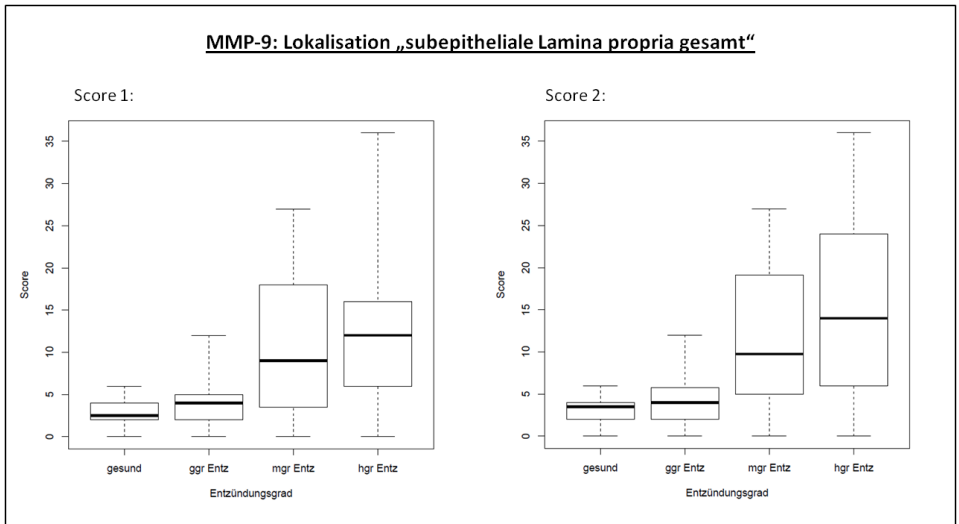


Abbildung 31: Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-9 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria gesamt“ und dem pathohistologischen Entzündungsgrad

Legende zu Abbildung 31:

ggr Entz = geringgradige Entzündung; mgr Entz = mittelgradige Entzündung; hgr Entz = hochgradige Entzündung

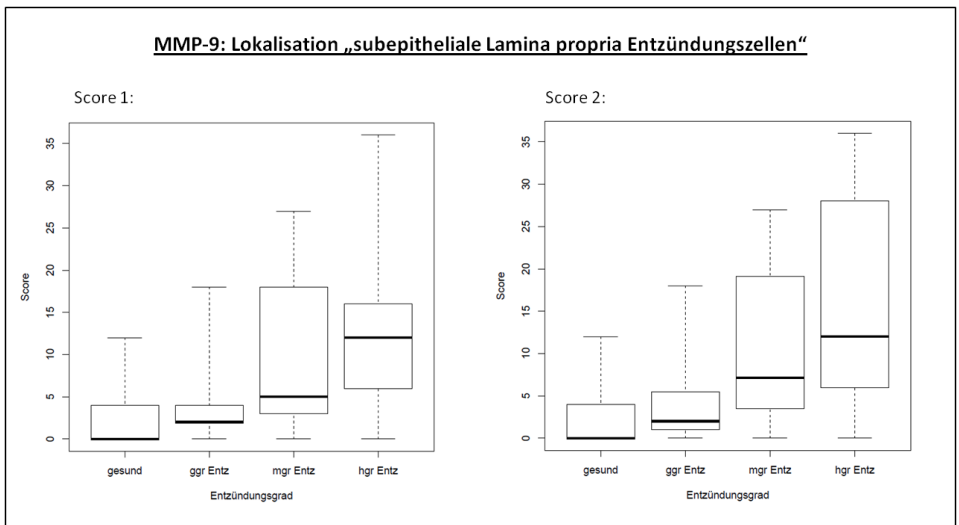


Abbildung 32: Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-9 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen“ und dem pathohistologischen Entzündungsgrad

Legende zu Abbildung 32:

ggr Entz = geringgradige Entzündung; mgr Entz = mittelgradige Entzündung; hgr Entz = hochgradige Entzündung

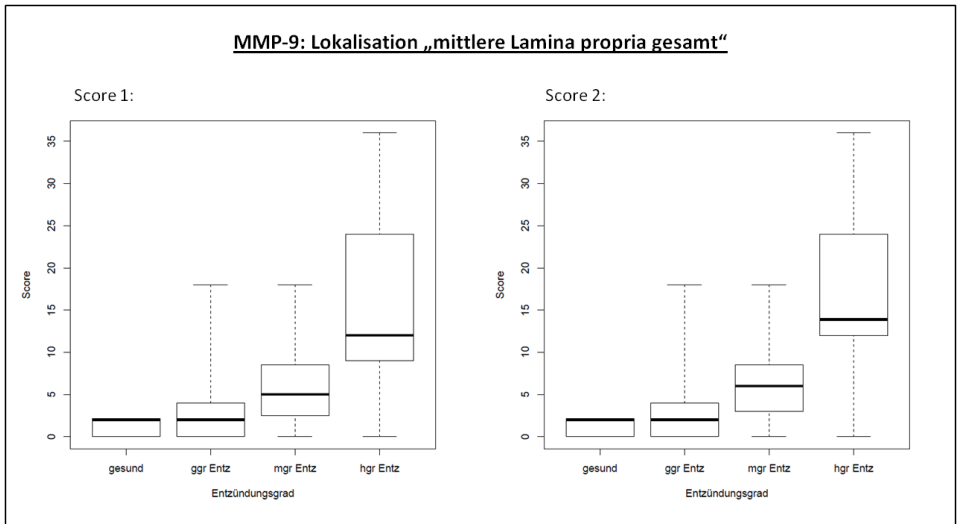


Abbildung 33: Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-9 an der Lokalisation „mittlere Lamina propria gesamt“ und dem pathohistologischen Entzündungsgrad

Legende zu Abbildung 33:

ggr Entz = geringgradige Entzündung; mgr Entz = mittelgradige Entzündung; hgr Entz = hochgradige Entzündung

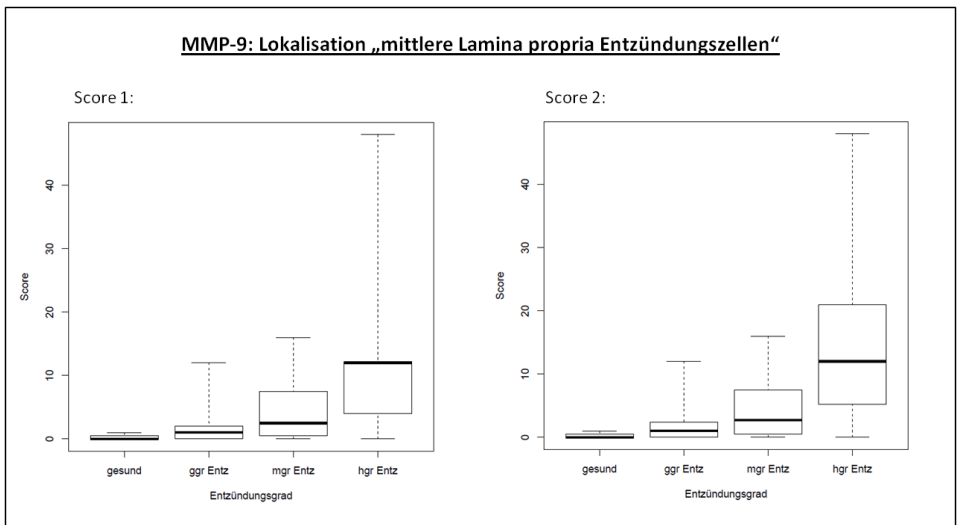


Abbildung 34: Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-9 an der Lokalisation „mittlere Lamina propria Entzündungszellen“ und dem pathohistologischen Entzündungsgrad

Legende zu Abbildung 34:

ggr Entz = geringgradige Entzündung; mgr Entz = mittelgradige Entzündung; hgr Entz = hochgradige Entzündung

4.6 Ergebnisse der immunhistologischen Untersuchungen bezüglich des Kollagenfasergehaltes

Die Untersuchung mit dem Programm BMDP3D ergab einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen zunehmender Veränderung im Kollagenfasergehalt und dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad (siehe Abbildung 35). Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman r_s ergab hierbei 0,7043 mit einem p-Wert < 0,0001.

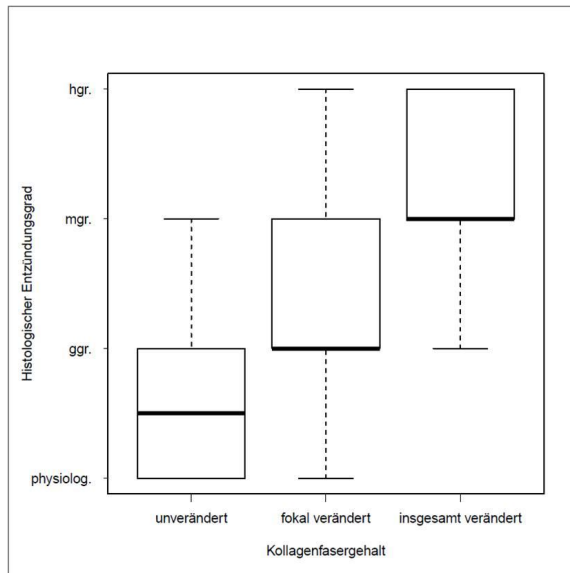


Abbildung 35: Darstellung des Zusammenhangs zwischen zunehmender Veränderung im Kollagenfasergehalt und dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad

Legende zu Abbildung 35:

physiolog. = physiologisch; *ggr.* = geringgradige Entzündung; *mgr.* = mittelgradige Entzündung; *hgr.* = hochgradige Entzündung

Es konnten durch mit dem Programm BMDP3D durchgeführte Rangkorrelationsanalysen und die anschließend durchgeführte Bonferroni-Holm-Prozedur folgende statistisch signifikante Zusammenhänge ermittelt werden:

4.6.1 MMP-2

Es besteht ein statistisch signifikanter, positiver Zusammenhang zwischen dem immunhistologischen Signal von MMP-2 in Entzündungszellen der subepithelialen Lamina propria und der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt.

4.6.2 MMP-3

Statistisch signifikante Zusammenhänge konnten nicht ermittelt werden.

4.6.3 MMP-8

Es besteht ein statistisch signifikanter, positiver Zusammenhang zwischen dem immunhistologischen Signal von MMP-8 in Entzündungszellen der subepithelialen Lamina propria und der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt.

4.6.4 MMP-9

Es besteht ein statistisch signifikanter, positiver Zusammenhang zwischen dem immunhistologischen Signal von MMP-9 in der subepithelialen und mittleren Lamina propria in ihrer Gesamtheit sowie in Entzündungszellen der subepithelialen Lamina propria und der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt.

4.6.5 TIMP-1

Statistisch signifikante Zusammenhänge konnten nicht ermittelt werden.

4.6.6 TIMP-2

Statistisch signifikante Zusammenhänge konnten nicht ermittelt werden.

Eine graphische Darstellung der statistisch signifikanten Untersuchungsergebnisse findet sich in Form von Box-and-Whisker-Plots in den Abbildungen 36–40.

Desweiteren konnten verschiedene statistisch auffällige, aber im Rahmen der Bonferroni-Holm-Prozedur nicht signifikante Zusammenhänge festgestellt werden, sowie verschiedene knapp nicht auffällige oder fraglich auffällige Zusammenhänge. Bei einer Reihe von Untersuchungen konnte zudem kein Zusammenhang festgestellt werden.

Bei der Untersuchung von faserassozierten, also extrazellulären Signalen im Alveolar-knochenbereich konnten im Rahmen der statistischen Auswertung keine statistisch signifikanten Zusammenhänge festgestellt werden.

Eine Übersicht über sämtliche Untersuchungsergebnisse findet sich in den Tabellen 22-26 im Anhang.

Eine Übersicht über sämtliche Untersuchungsergebnisse inklusive ihrer Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman, der zugehörigen p-Werte und der Werte für α -Bonf.Holm findet sich in den Tabellen 27-31 im Anhang. Die Legende zu den Tabellen 27–31 findet sich im Anschluss an die Tabelle 31.

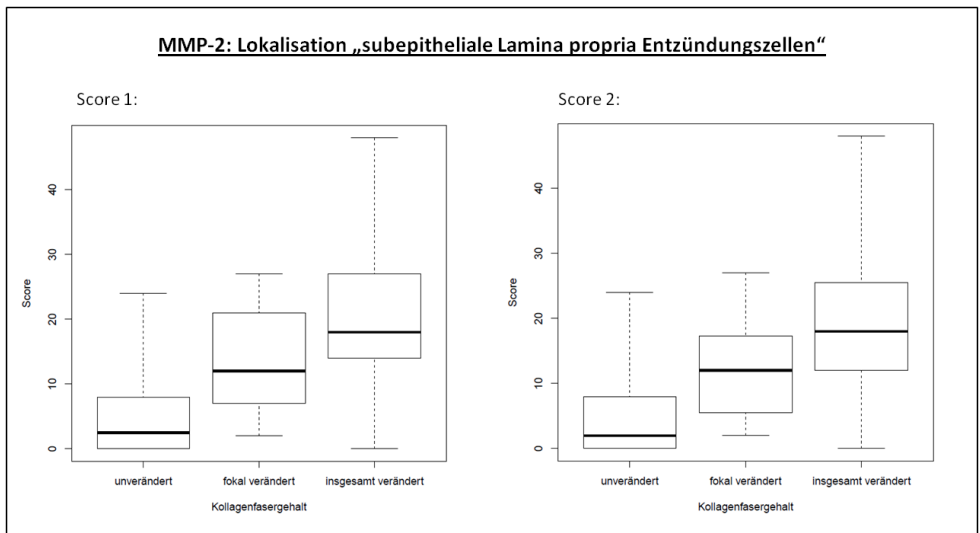


Abbildung 36: Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-2 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen“ und dem Kollagenfasergehalt

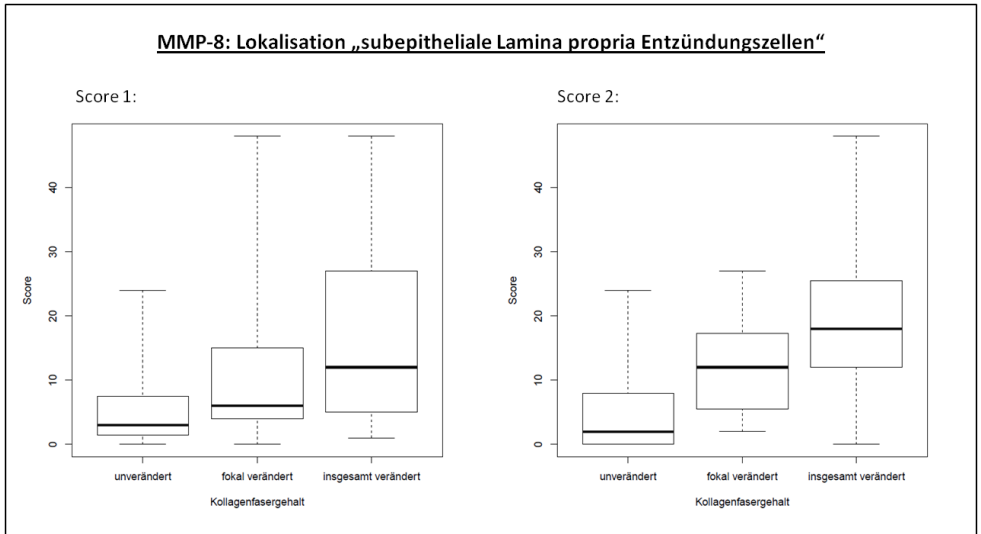


Abbildung 37: Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-8 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen“ und dem Kollagenfasergehalt

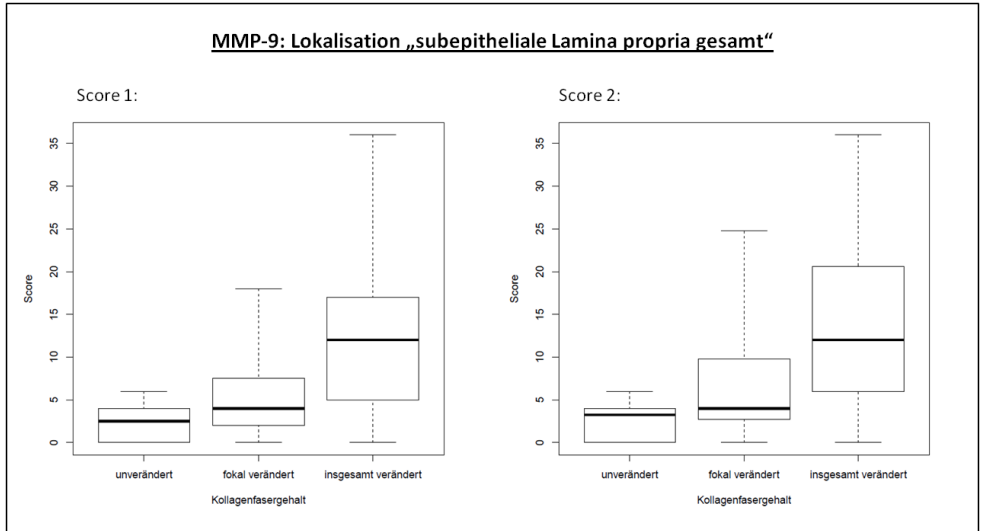


Abbildung 38: Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-9 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria gesamt“ und dem Kollagenfasergehalt

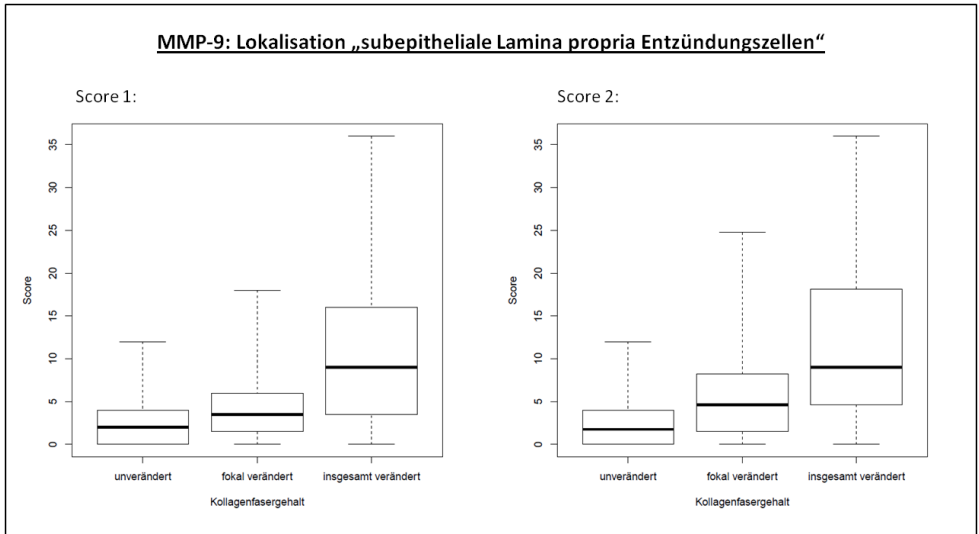


Abbildung 39: Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-9 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen“ und dem Kollagenfasergehalt

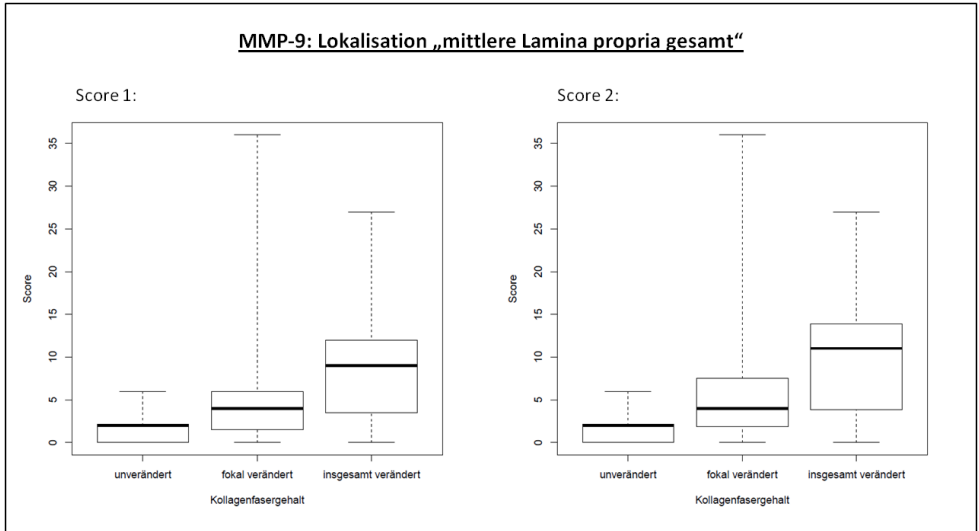


Abbildung 40: Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-9 an der Lokalisation „mittlere Lamina propria gesamt“ und dem Kollagenfasergehalt

5 Diskussion

Wie aus der Literaturübersicht zu ersehen, ist die Rolle der Matrix-Metalloproteinasen bei der Parodontitis des Menschen bereits gut untersucht. Verschiedene Studien zeigen einen Zusammenhang zwischen erhöhtem MMP-Spiegel bzw. erhöhter MMP-Aktivität und parodontaler Erkrankung (MÄKELÄ et al., 1994; KUBOTA et al., 1996; SOELL et al., 2002; EJEIL et al., 2003; BEKLEN et al., 2006; KUBOTA et al., 2008; RAI et al., 2008; DONG et al., 2009; HERNÁNDEZ RÍOS et al., 2009).

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Fragestellung, ob ähnliche Zusammenhänge auch bei der Parodontitis des Hundes vorliegen. Ebenso wird untersucht, in welchen Zellen der kaninen Gingiva MMPs und TIMPs nachgewiesen werden können.

Zum Nachweis von Matrix-Metalloproteinasen in der gingivalen Schleimhaut sind verschiedene Methoden, beispielsweise die Immunhistologie, aber auch die PCR, Western-Blot-Verfahren und *in situ*-Hybridisierung beschrieben (TERVAHARTIALA et al., 2000; SCHWARZ et al., 2007; COROTTI et al., 2009; OYARZÚN et al., 2010; PAULA-SILVA et al., 2010; HARDY et al., 2012). Mittels Zymographie kann die Aktivität von Matrix-Metalloproteinasen nachgewiesen werden (EJEIL et al., 2003; KIM et al., 2013). In der vorliegenden Arbeit wurde ein immunhistologisches Nachweisverfahren gewählt, da dieses gut geeignet ist, um die einzelnen MMP-exprimierenden Zellen darzustellen.

5.1 Modalitäten der Probenentnahme

Die Modalitäten der Probenentnahme orientieren sich daran, dass es sich bei den untersuchten Tieren um Patienten der Klinik für Kleintiere, Chirurgie, der Justus-Liebig-Universität handelt, und nicht etwa wie in anderen Untersuchungen um Versuchstiere (SCHROEDER und LINDHE, 1975; SVANBERG et al., 1982; KRYSHALSKYJ et al., 1986; LINDHE et al., 1992; BIANCU et al., 1995; SCHWARZ et al., 2007; PAULA-SILVA et al., 2010) oder um Sektionsgut (HAMP und LINDBERG, 1977). Aus Tierschutzgründen beschränkt sich die Probenentnahme pro Tier somit auf maximal drei Gingivabiotate mit einem Durchmesser von 3 mm. Da in einzelnen Fällen hochgradig entzündete Schleimhaut bei der Probenentnahme starke Quetschartefakte erlitt, wurden auch jeweils Proben aus makroskopisch unverändertem Gewebe (Lokalisation a) und aus dem Übergangsbereich (Lokalisation c) entnommen. Die so gewonnenen Gewebeproben wurden für Folgeuntersuchungen asserviert bzw. konnten in den Fällen, in denen sich die Probe aus der Lokalisation b als nicht auswertbar erwies, herangezogen werden.

Die Wahl der Probenentnahmestelle richtet sich zudem nach der Größe der Mundhöhle der untersuchten Hunde: Bei sehr kleinen Rassen, beispielsweise einem Chihuahua oder einem Yorkshire Terrier, ist eine Probenentnahme mittels der verwendeten Biopsiestanze auf Höhe der Zähne 110, 210, 311 und 411 nicht ohne Verletzungsgefahr für das Tier möglich, so dass in diesen Fällen auf eine Beprobung der genannten Lokalisationen zugunsten weiter rostral gelegener Areale verzichtet wurde.

Der Einsatz von im Klinikalltag vorgestellten Patienten birgt neben den genannten Einschränkungen bei der Probennahme jedoch auch den Vorteil, dass es sich um ein praxisnahes, heterogenes Patientengut handelt. Das Vorhandensein eventueller rassespezifischer Besonderheiten wird somit ausgeglichen.

Die Ein- und Ausschlusskriterien für die untersuchten Hunde sind angelehnt an entsprechende Untersuchungen aus der Humanmedizin (BEKLEN et al., 2006; MARCACCINI et al., 2009; OYARZÚN et al., 2010). Auch die Auswahl der untersuchten MMPs und TIMPs orientiert sich an der humanmedizinischen Literatur (MÄKELÄ et al., 1994; MEIKLE et al., 1994; KUBOTA et al., 1996; TERVAHARTIALA et al., 2000; SOELL et al., 2002; EJEIL et al., 2003; BEKLEN et al., 2006; KUBOTA et al., 2008; RAI et al., 2008).

5.2 Klinische Untersuchung und histologische Untersuchung von HE-gefärbten Präparaten

Die Einstufung der untersuchten Tiere in die Gruppen 0-4 gemäß dem Grad der Parodontalerkrankung setzt sich aus den Befunden der klinischen und radiologischen Untersuchung zusammen. Da das Gesamtbild der Befunde der Mundhöhle des jeweiligen Patienten entscheidend für die Einstufung in eine Gruppe ist, wurden nicht intraorale Einzelzahn-aufnahmen (EICKHOFF, 2012), sondern Übersichtsaufnahmen der vier Kieferquadranten sowie des rostralen Ober- und Unterkiefers angefertigt.

Eine Beeinflussung der zu untersuchenden Matrix-Metalloproteinasen durch die eingesetzten Anästhetika und Analgetika soll durch das einheitliche Regime (Diazepam, Atropinsulfat, Ketamin, Xylazin, Isofluran, Infusion mit Vollelektrolytlösung, Verabreichung von NSAIDs erst unmittelbar nach erfolgter Probenentnahme) vereinheitlicht werden.

Im Rahmen der statistischen Auswertung kann ein signifikanter Zusammenhang zwischen der klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen gemäß dem Grad der Parodontalerkrankung und dem histologisch feststellbaren Entzündungsgrad der Gingiva gezeigt werden. Somit liegt eine gute Übereinstimmung zwischen klinischer und histologischer Untersuchung vor. Bei der

klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen gemäß dem Grad der Parodontalerkrankung wird die klinische Untersuchung der Mundhöhle durch Adspektion und Untersuchung mittels Parodontalsonde mit der radiologischen Untersuchung kombiniert. Dies stellt sich als sensibler dar, als die ausschließliche Beurteilung von Rötung, Schwellung und Blutungsneigung der Gingiva zur Ermittlung des Gingivitisindex. Zudem gilt, dass das Vorliegen einer Gingivitis nicht zwangsläufig mit dem Vorliegen einer Parodontitis korreliert (EICKHOFF, 2005; GORREL, 2006).

Die statistische Auswertung im Rahmen der vorliegenden Arbeit zeigt zudem einen signifikanten Zusammenhang zwischen zunehmender Veränderung im Kollagenfasergehalt und dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad.

EJEIL und Mitarbeiter (2003) untersuchen den Zusammenhang zwischen der Gewebsexpression von Matrix-Metalloproteinasen und ihrer Inhibitoren und dem Verlust von Kollagenfasern in kultivierten Gingivaprobe von Patienten mit gering- bis hochgradiger Gingivitis im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe. Die Gruppeneinteilung erfolgt hier gemäß dem modifizierten Gingivitisindex nach LÖE und SILNESS (1963). Auch EJEIL und Mitarbeiter (2003) stellen einen statistisch signifikanten Kollagenfaserverlust der erkrankten Patienten im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe fest. In der Untersuchung von EJEIL und Mitarbeitern (2003) erfolgen sowohl eine Hämatoxylin-Eosin-Färbung als auch eine Kollagenfaserfärbung mit Picrosiriusrot nach JUNQUEIRA und Mitarbeitern (1979). In der eigenen Untersuchung werden Veränderungen im Kollagenfasergehalt hingegen nur am HE-Schnitt ermittelt.

5.3 Immunhistologische Untersuchungen

In der Literatur ist beim Menschen ein Zusammenhang zwischen einer Parodontitis und der verstärkten Expression bzw. Aktivität der Matrix-Metalloproteinasen -1, -2, -3, -7, -8, -9 und -13 beschrieben (MÄKELÄ et al., 1994; KUBOTA et al., 1996; SOELL et al., 2002; EJEIL et al., 2003; BEKLEN et al., 2006; KUBOTA et al., 2008; RAI et al., 2008; HERNÁNDEZ RÍOS et al., 2009). Im folgenden Teil werden die Ergebnisse der eigenen immunhistologischen Untersuchungen von MMP-2, -3, -8 und -9 sowie von TIMP-1 und -2 mit den in der Literatur beschriebenen Untersuchungsergebnissen verglichen. Da bislang nur wenige entsprechende Untersuchungen beim Hund durchgeführt wurden, beziehen sich diese Vergleiche meist auf beim Menschen durchgeführte Studien. Ebenso muss man berücksichtigen, dass sich von Studie zu Studie das Spektrum der untersuchten MMPs und TIMPs sowie der Untersuchungsschwerpunkt unterscheiden. Teilweise werden, wie oben erwähnt, auch andere

Untersuchungsmethoden als die Immunhistochemie herangezogen. Ebenso wird in verschiedenen Studien nicht nur die gingivale Schleimhaut, sondern teilweise auch Sulkusflüssigkeit (MÄKELÄ et al., 1994; SOELL et al., 2002; BEKLEN et al., 2006; RAI et al., 2008; HERNÁNDEZ RÍOS et al., 2009), Gewebewasserüberstand von Gingivabiotaten (SOELL et al., 2002), Mundspülflüssigkeit (MÄKELÄ et al., 1994) und Speichel (MÄKELÄ et al., 1994; RAI et al., 2008) untersucht.

Die Ergebnisse der immunhistologischen Untersuchung werden im Rahmen der statistischen Auswertung gemäß verschiedener Fragestellungen untersucht. Statistisch signifikante Ergebnisse können bei Zusammenhängen zwischen dem immunhistologischen Signal der untersuchten MMPs mit dem histologischen Entzündungsgrad der Gingiva festgestellt werden sowie bei den den Kollagenfasergehalt betreffenden Untersuchungen.

Mit der klinischen Einteilung in Gruppen gemäß dem Grad der Parodontalerkrankung können im Rahmen der statistischen Auswertung einige auffällige und fraglich auffällige statistische Zusammenhänge mit den immunhistologischen Signalen der untersuchten MMPs und TIMPs ermittelt werden (siehe Tabellen 11 und 12 im Anhang). Mit dem klinisch ermittelten Gingivitisindex bestehen ebenfalls nur auffällige (bei MMP-8, siehe Tabelle 18 im Anhang), knapp nicht auffällige (bei MMP-3, siehe Tabelle 19 im Anhang) und fraglich auffällige (bei MMP-2, siehe Tabelle 20 im Anhang) statistische Zusammenhänge.

5.3.1 MMP-2

In der vorliegenden Arbeit kann ein statistisch signifikanter, positiver Zusammenhang zwischen dem immunhistologischen Signal von MMP-2 in Entzündungszellen der subepithelialen und mittleren Lamina propria und dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad gezeigt werden. Zudem besteht ein statistisch signifikanter, positiver Zusammenhang zwischen dem immunhistologischen Signal von MMP-2 in Entzündungszellen der subepithelialen Lamina propria und der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt.

Dies lässt schlussfolgern, dass für MMP-2 die aufgestellte Hypothese, dass es bei der Parodontitis des Hundes abhängig vom Schweregrad der Erkrankung zu einer gesteigerten Expression von Matrix-Metalloproteinasen in der gingivalen Schleimhaut kommt, zutrifft.

MEIKLE und Mitarbeiter (1994) führen eine Immunfluoreszenz-Darstellung von MMP-2, sowie von einer nicht näher bezeichneten Kollagenase und einem Stromelysin, von TIMP-1 und von Leukozyten in Gingivagewebe von chronischen humanen Parodontitispatienten

durch. Sie können die MMPs und TIMP-1 in Lokalisationen nachweisen, in denen histologisch Hinweise auf Gewebeumbauprozesse vorliegen.

Dies passt zur oben beschriebenen verstärkten Expression von MMP-2 in Entzündungszellen im Zusammenhang mit der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt und dem histologischen Entzündungsgrad.

COROTTI und Mitarbeiter (2009) untersuchen in einer experimentellen Studie an Ratten mittels Immunhistochemie die Expression und das Verteilungsmuster von MMP-2 und MMP-9 bei der Entstehung der apikalen Parodontitis. Sie weisen in der akuten Phase der Parodontitisentwicklung (Tag 7-21) eine akute entzündliche Infiltration mit Leukozyten, insbesondere neutrophilen Granulozyten, nach. Es ist ein deutlich positives immunhistologisches Signal für MMP-2 und MMP-9 nachzuweisen. In den folgenden experimentellen Phasen (chronische Phase, Tag 30-90) sind MMP-2 und MMP-9 schwächer nachweisbar, vor allem in mononukleären Zellen (Makrophagen, Lymphozyten, Plasmazellen; COROTTI et al., 2009).

Bei Vergleich der vorliegenden Arbeit mit jener von COROTTI und Mitarbeitern (2009) ist zunächst zu beachten, dass sich sowohl die untersuchten Spezies als auch der Studienaufbau unterscheiden. Zudem wird bei COROTTI und Mitarbeitern (2009) die apikale Parodontitis, welche sich von der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Parodontitis in der Pathogenese unterscheidet, untersucht. Dennoch ist festzuhalten, dass in beiden Untersuchungen bei Vorliegen einer parodontalen Erkrankung ein verstärktes immunhistologisches Signal von MMP-2 beobachtet werden kann. Somit kann, ausgehend von den eigenen Untersuchungsergebnissen und jenen von COROTTI und Mitarbeitern (2009), die Schlussfolgerung gezogen werden, dass MMP-2 eine wichtige Rolle beim Abbau der extrazellulären Matrix im Rahmen von parodontalen Erkrankungen spielt.

MÄKELÄ und Mitarbeiter (1994) vergleichen das Vorkommen, den zellulären Ursprung sowie die Aktivität von Matrix-Metalloproteinasen bei Parodontitispatienten vor und nach Therapie mit einer gesunden Kontrollgruppe. In Mundspülflüssigkeit, im Speichel und in Sulkusflüssigkeit können sie zymographisch die Aktivität von MMP-2 und -9 nachweisen. Die Aktivität dieser Matrix-Metalloproteinasen ist bei Parodontitispatienten im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe erhöht und sinkt signifikant in Folge einer Parodontalbehandlung. Somit kann auch hier die Schlussfolgerung gezogen werden, dass MMP-2 zur parodontitisassoziierten Gewebszerstörung beiträgt.

EJEIL und Mitarbeiter (2003) untersuchen den Zusammenhang zwischen der Gewebsexpression bestimmter Matrix-Metalloproteinasen (MMP-1, -2, -3, -7, -9 und -13) und ihrer

Inhibitoren (TIMP-1 und -2) mit dem Verlust von Kollagenfasern in kultivierten Gingivaproben von humanen Patienten mit gering- bis hochgradiger Gingivitis im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe. Sie bedienen sich der Zymographie, des Dot-Blot- und des Western-Blot-Verfahrens. Mittels Zymographie können sie eine Zunahme der aktiven Form von MMP-2 bei einem Kollagenfaserverlust zeigen. Auch diese Untersuchung zeigt also, dass MMP-2 beim Abbau der extrazellulären Matrix im Rahmen einer Parodontitis eine Rolle spielt.

DONG und Mitarbeiter (2009) untersuchen beim Menschen die Expression und das Verteilungsmuster von MMP-2 sowie von MMP-1 und von EMMPRIN (Extrazellulärer Matrix-Metalloproteinase-Induktor). EMMPRIN ist ein Mitglied der Immunglobulin-Superfamilie und kann die MMP-Synthese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen stimulieren (ELLIS et al., 1989; BISWAS et al., 1995). In gesunder Gingiva werden diese Moleküle hauptsächlich im Gingivaepithel exprimiert. Immunhistochemisch können sie in den Gingivaepithelzellen und Fibroblasten dargestellt werden. Bei der Parodontitis findet eine verstärkte Expression von EMMPRIN statt. Diese kann vom Epithel bis ins subepitheliale Bindegewebe nachgewiesen werden, sowohl in Entzündungszellen (insbesondere lymphozytäre Infiltrate) als auch in Fibroblasten. MMP-1 und -2 zeigen das gleiche Verteilungsmuster (DONG et al., 2009). Eine Untersuchung von MMP-1 und von EMMPRIN wurde im Rahmen der eigenen Studie nicht durchgeführt. Im Rahmen der eigenen Untersuchung kann MMP-2 jedoch sowohl in gesunder als auch erkrankter Gingiva in epithelialen Zellen, Entzündungszellen, Fibrozyten und Fibroblasten sowie in Endothelzellen dargestellt werden. Statistisch signifikante Zusammenhänge finden sich in der eigenen Studie jedoch nur zwischen dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad bzw. der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt und dem immunhistologischen Signal von MMP-2 in Entzündungszellen.

5.3.2 MMP-3

In der vorliegenden Arbeit kann ein statistisch signifikanter, positiver Zusammenhang zwischen dem immunhistologischen Signal von MMP-3 in Entzündungszellen der subepithelialen Lamina propria und dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad gezeigt werden. Dies lässt schlussfolgern, dass MMP-3 bei entzündlichen Prozessen in der Gingiva des Hundes eine Rolle spielt.

Statistisch signifikante Zusammenhänge mit der Veränderung im Kollagenfasergehalt können in der vorliegenden Arbeit nicht ermittelt werden. Es bestehen jedoch diesbezüglich statistisch

auffällige Zusammenhänge im Epithel in seiner Gesamtheit, dem Stratum basale des Epithels und in Entzündungszellen der subepithelialen Lamina propria (siehe Tabelle 23 im Anhang).

Auch die im vorherigen Abschnitt erwähnte Untersuchung von EJEIL und Mitarbeitern (2003) kann keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen der Expression von MMP-3 und dem Verlust von Kollagenfasern bei der Parodontitis zeigen.

BEKLEN und Mitarbeiter (2006) zeigen in Western-Blot-Untersuchungen von humanen Parodontitispatienten erhöhte Spiegel von MMP-3 in der Sulkusflüssigkeit. In immunhistologischen Untersuchungen von Gingivagewebe stellen sie bei Parodontitispatienten im Vergleich zur einer gesunden Kontrollgruppe eine hohe Zahl von immunhistologisch für MMP-3 positiven Zellen mit einer deutlichen Signalintensität dar. Bei den positiven Zellen handelt es sich in dieser Untersuchung um Fibroblasten- und Makrophagen-ähnliche Zellen (BEKLEN et al., 2006).

5.3.3 MMP-8

In der vorliegenden Arbeit kann ein statistisch signifikanter, positiver Zusammenhang zwischen dem immunhistologischen Signal von MMP-8 in der subepithelialen Lamina propria in ihrer Gesamtheit sowie in Entzündungszellen der subepithelialen Lamina propria und dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad gezeigt werden. Ebenso besteht ein statistisch signifikanter, positiver Zusammenhang zwischen dem immunhistologischen Signal von MMP-8 in Entzündungszellen der subepithelialen Lamina propria und der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt.

Dies lässt schlussfolgern, dass für MMP-8 die aufgestellte Hypothese, dass es bei der Parodontitis des Hundes abhängig vom Schweregrad der Erkrankung zu einer gesteigerten Expression von Matrix-Metalloproteinasen in der gingivalen Schleimhaut kommt, zutrifft.

SCHWARZ und Mitarbeiter (2007) untersuchen histologisch und immunhistologisch den Verlauf der parodontalen Wundheilung nach nicht-chirurgischer Parodontalbehandlung mit einem Er:YAG-Laser (Erbium-Yttrium-Aluminium-oxid-Granat-Laser). Sie verwenden fünf an chronischer Parodontitis erkrankte Beagle-Hunde, die immunhistologische Untersuchung bezieht sich auf MMP-8, Kollagen Typ I und CD68. In dieser Untersuchung wird MMP-8 von Makrophagen und Plasmazellen des entzündlichen Infiltrates exprimiert. In Proben, in denen sich ein verstärktes entzündliches Infiltrat darstellt, findet sich auch ein verstärktes immunhistologisches Signal für MMP-8, insbesondere an Lokalisationen mit aktiver Alveolarknochenresorption. In Proben mit Zementneubildung zeigt sich hingegen ein schwaches immunhistologisches Signal für MMP-8 (SCHWARZ et al., 2007).

Die verstärkte Expression von MMP-8 in Entzündungszellen im Zusammenhang mit entzündlichen Veränderungen bzw. Veränderungen im Kollagenfasergehalt in der eigenen Untersuchung findet somit in der Untersuchung von SCHWARZ und Mitarbeitern (2007) eine Entsprechung.

Die Untersuchung von BEKLEN und Mitarbeitern (2006) zeigt in Western-Blot-Untersuchungen von humanen Parodontitispatienten erhöhte Spiegel von MMP-8 in der Sulkusflüssigkeit. RAI und Mitarbeiter (2008) können im Speichel von humanen Parodontitispatienten signifikant höhere Spiegel von MMP-8 nachweisen als im Speichel von Gingivitispatienten bzw. einer parodontal gesunden Kontrollgruppe.

5.3.4 MMP-9

In der vorliegenden Arbeit kann ein statistisch signifikanter, positiver Zusammenhang zwischen dem immunhistologischen Signal von MMP-9 in der subepithelialen und mittleren Lamina propria in ihrer Gesamtheit sowie in Entzündungszellen der subepithelialen und mittleren Lamina propria und dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad festgestellt werden. Zudem besteht ein statistisch signifikanter, positiver Zusammenhang zwischen dem immunhistologischen Signal von MMP-9 in der subepithelialen und mittleren Lamina propria in ihrer Gesamtheit sowie in Entzündungszellen der subepithelialen Lamina propria und der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt.

Dies lässt schlussfolgern, dass für MMP-9 die aufgestellte Hypothese, dass es bei der Parodontitis des Hundes abhängig vom Schweregrad der Erkrankung zu einer gesteigerten Expression von Matrix-Metalloproteinasen in der gingivalen Schleimhaut kommt, zutrifft.

Auch in der Literatur sind ähnliche Zusammenhänge beschrieben. So zeigen beispielsweise EJEIL und Mitarbeiter (2003) mittels Zymographie und Dot-Blot-Verfahren eine Korrelation zwischen Gingivitisgrad bzw. Kollagenfaserverlust und Zunahme von MMP-9. BEKLEN und Mitarbeiter (2006) zeigen in Western-Blot-Untersuchungen von humanen Parodontitispatienten erhöhte Spiegel von MMP-9 in der Sulkusflüssigkeit. Auch die Untersuchung von RAI und Mitarbeitern (2008) kann mittels ELISA-Technik bei Parodontitispatienten signifikant höhere Spiegel von MMP-9 in der Sulkusflüssigkeit nachweisen als bei gesunden Patienten oder solchen mit Gingivitis. Auch COROTTI und Mitarbeiter (2009) können in ihrer immunhistochemischen, experimentellen Studie an Ratten in der akuten und chronischen Phase der apikalen Parodontitisentwicklung ein immunhistologisches Signal für MMP-9 in Entzündungszellen nachweisen. In der Untersuchung von MÄKELÄ und Mitarbeitern (1994) ist die Aktivität von MMP-9 in Mundspülflüssigkeit, im

Speichel und in Sulkusflüssigkeit bei Parodontitispatienten im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe erhöht und sinkt signifikant in Folge einer Parodontalbehandlung.

5.3.5 TIMP-1 und TIMP-2

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit kann zwischen TIMP-1 bzw. TIMP-2 und der klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen gemäß dem Grad der Parodontalerkrankung, dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad, dem klinisch ermittelten Gingivitisindex oder dem Kollagenfasergehalt der histologischen Präparate kein statistisch signifikanter Zusammenhang ermittelt werden.

Es können jedoch verschiedene statistisch auffällige Zusammenhänge festgestellt werden:

Es liegen statistisch auffällige, negative Zusammenhänge zwischen der klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen gemäß dem Grad der Parodontalerkrankung und dem immunhistologischen Signal von TIMP-1 in Zellen des Stratum basale, in Fibroblasten und Fibrozyten der mittleren Lamina propria und in Gefäßendothelien vor (siehe Tabelle 11 im Anhang). Es besteht ein statistisch auffälliger, negativer Zusammenhang zwischen dem histologischen Entzündungsgrad und dem immunhistologischen Signal von TIMP-1 in den Zellen des Stratum basale (siehe Tabelle 15 im Anhang). Es liegt ein statistisch auffälliger, negativer Zusammenhang zwischen der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt und dem immunhistologischen Signal von TIMP-1 in den Zellen des Stratum basale vor (siehe Tabelle 23 im Anhang). Es bestehen statistisch auffällige, negative Zusammenhänge zwischen der klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen gemäß dem Grad der Parodontalerkrankung und dem immunhistologischen Signal von TIMP-2 in den Zellen des Epithels in seiner Gesamtheit, des Stratum basale sowie des Endothels (siehe Tabelle 11 im Anhang). Zudem liegt ein statistisch auffälliger, positiver Zusammenhang zwischen dem histologischen Entzündungsgrad und dem immunhistologischen Signal von TIMP-2 in den Zellen der mittleren Lamina propria in ihrer Gesamtheit vor (siehe Tabelle 15 im Anhang).

Auffällig ist hierbei, dass es mit zunehmender Schwere der Erkrankung zu einer verminderten, wenn auch nicht signifikanten, Expression von TIMP-1 und TIMP-2 kommt. Dies lässt vermuten, dass bei zunehmender Schwere der Erkrankung eine verminderte Inhibition der MMPs vorliegt und bestätigt, wenn auch mit Einschränkungen, die initial aufgestellte Hypothese.

Eine Ausnahme stellt die Expression von TIMP-2 in den Zellen der mittleren Lamina propria in ihrer Gesamtheit dar, hier kann bei zunehmendem Schweregrad der Entzündung ein verstärktes immunhistologisches Signal festgestellt werden. Ebenfalls auffällig ist, dass sich die

genannten Zusammenhänge vorwiegend auf das Stratum basale und die Gefäßendothelien beziehen, jeweils einmal auch auf das Epithel in seiner Gesamtheit, die mittlere Lamina propria in ihrer Gesamtheit und auf Fibroblasten und Fibrozyten in der mittleren Lamina propria.

Vergleicht man dies mit den untersuchten MMPs (MMP-2, -3, -8 und -9), so findet sich in Bezug auf die Gefäßendothelien in keinem Fall ein statistisch signifikanter oder auffälliger Zusammenhang. In Bezug auf das Epithel bzw. das Stratum basale des Epithels finden sich statistisch auffällige, aber nicht signifikante Zusammenhänge lediglich zwischen dem immunhistologischen Signal von MMP-3 und dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad und der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt.

Die in der Literatur beschriebenen Untersuchungsergebnisse bezüglich der TIMPs bei der Parodontitis des Menschen sind teilweise widersprüchlich.

MEIKLE und Mitarbeiter (1994) können beim Menschen TIMP-1 mittels Immunfluoreszenz in Bindegewebszellen an Lokalisationen nachweisen, in denen histologisch Hinweise auf Gewebeumbauprozesse vorliegen.

EJEIL und Mitarbeiter (2003) weisen mittels Dot-Blot-Verfahren eine Korrelation zwischen der Zunahme von TIMP-1 mit dem Verlust von Kollagenfasern in erkrankter humaner Gingiva nach. Für TIMP-2 können keine statistisch signifikanten Zusammenhänge festgestellt werden. KUBOTA und Mitarbeiter (1996) weisen in von Parodontitis betroffener humaner Gingiva nicht nur signifikant erhöhte Spiegel der mRNA von MMP-1, -3 und -8 nach, sondern auch von TIMP-1. Die Expression von TIMP-1 wird durch bestimmte Wachstumsfaktoren, z.B. Transforming Growth Factor- β (TGF- β) und basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) gefördert (OVERALL et al., 1989; VARGHESE et al., 1995; KUBOTA et al., 1996). KUBOTA und Mitarbeiter (1996) vermuten, dass diese Wachstumsfaktoren in entzündetem parodontalen Gewebe vermehrt produziert werden, um somit via TIMP-1 der Gewebserstörung entgegenzuwirken (KUBOTA et al., 1996). KUBOTA und Mitarbeiter (2008) untersuchen in einer weiteren Studie die Veränderung der Genexpression von Matrix-Metalloproteinasen und ihrer Inhibitoren in der Gingiva von Parodontitispatienten. Nicht nur MMP-1, -3, -9 und -13 zeigen einen Anstieg bei Parodontitispatienten, sondern auch TIMP-1 und -4. Dies ist jedoch nur im Fall von MMP-1 und TIMP-4 statistisch signifikant. KUBOTA und Mitarbeiter (2008) zeigen auch eine Imbalance zwischen den MMPs und den TIMPs auf: Das Verhältnis von MMPs zu TIMPs verschiebt sich zu Gunsten der MMPs. Somit ist bei Vorliegen einer Parodontitis das Gleichgewicht von Abbau und Aufbau der extrazellulären Matrix nicht mehr gewahrt.

Eine verstärkte Expression der TIMPs kann - mit Ausnahme von TIMP-2 in den Zellen der mittleren Lamina propria in ihrer Gesamtheit - im Rahmen der eigenen Untersuchungen an kaniner Gingiva nicht beobachtet werden. Allerdings muss beachtet werden, dass in den oben genannten Studien andere Untersuchungsmethoden als die Immunhistologie zum Einsatz kommen. Ein Quotient von MMPs und TIMPs wird im Rahmen der eigenen Studie nicht ermittelt. Eine Imbalance im Sinne einer Zunahme der MMP-Expression und tendenziellen Abnahme der TIMP-Expression bei zunehmender Schwere der Erkrankung kann jedoch im Rahmen der vorliegenden Arbeit ebenfalls beobachtet werden.

OYARZÚN und Mitarbeiter (2010) untersuchen in humaner gingivaler Schleimhaut mittels Western-Blot die Expression von TIMP-2 sowie von MMP-14 und mittels Immunhistologie deren zellulären Ursprung. Sowohl die TIMP-2-Expression als auch die MMP-14-Expression sind in an Parodontitis erkrankter Gingiva im Vergleich zu gesunder Schleimhaut signifikant erhöht. Auch das Verhältnis zwischen MMP-14 und TIMP-2 zeigt sich in parodontal erkranktem Gewebe verändert: In an Parodontitis erkrankter Gingiva kommt es zu einem statistisch signifikanten Anstieg des Quotienten. Immunhistologisch kann TIMP-2 in Epithelzellen, mononukleären Zellen und Fibroblasten dargestellt werden, MMP-14 in Fibroblasten und Makrophagen. TIMP-2 und MMP-14 können sowohl in erkranktem als auch in gesundem Gewebe nachgewiesen werden (OYARZÚN et al., 2010).

In der vorliegenden Arbeit besteht ebenfalls ein statistisch auffälliger, allerdings nicht signifikanter, positiver Zusammenhang zwischen dem histologischen Entzündungsgrad und dem immunhistologischen Signal von TIMP-2 in den Zellen der mittleren Lamina propria in ihrer Gesamtheit. Allerdings bestehen in der vorliegenden Arbeit auch statistisch auffällige, negative Zusammenhänge zwischen der klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen gemäß dem Grad der Parodontalerkrankung und dem immunhistologischen Signal von TIMP-2 in den Zellen des Epithels in seiner Gesamtheit, des Stratum basale sowie der Gefäßendothelien. Dies kann in der Untersuchung von OYARZÚN und Mitarbeitern (2010) nicht gezeigt werden, allerdings kommt es hier zu einer Veränderung des Verhältnisses von MMP-14 und TIMP-2 im Sinne einer Verschiebung zu Gunsten von MMP-14.

SOELL und Mitarbeiter (2002) können hingegen mittels ELISA-Technik zeigen, dass die Spiegel von TIMP-1 und TIMP-2 in Gewebswasserproben von Gingivabiotataten und der Sulkusflüssigkeit von humanen Parodontitispatienten im Vergleich zu einer parodontal gesunden Kontrollgruppe signifikant erniedrigt sind. Dies korrespondiert mit den eigenen Untersuchungsergebnissen. Zu beachten ist allerdings, dass sich sowohl das Untersuchungsmaterial als auch die Untersuchungsmethoden unterscheiden.

Zusammenfassend kann man schlussfolgern, dass die Rolle der TIMPs bei der Parodontitis komplex und teilweise widersprüchlich ist. Ob es zu einer vermehrten oder verminderten Expression kommt, ist möglicherweise abhängig vom Stadium bzw. der Schwere der Erkrankung oder auch von individuellen Faktoren. Auch speziesspezifische Unterschiede sind denkbar. Im Rahmen der vorliegenden, die Parodontitis des Hundes betreffenden Arbeit, zeigt sich zumeist eine negative, jedoch nicht statistisch signifikante Korrelation zwischen der Expression von TIMP-1 bzw. TIMP-2 und der klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen gemäß dem Grad der Parodontalerkrankung, dem histologischen Entzündungsgrad und der Veränderung im Kollagenfasergehalt. Dies lässt an dieser Stelle eine verminderte Inhibition der Matrix-Metalloproteinasen durch die TIMPs vermuten und somit ein Fortschreiten der Zerstörung des Parodontiums. Andererseits zeigt sich im Rahmen der vorliegenden Arbeit auch ein statistisch auffälliger, positiver Zusammenhang zwischen dem histologischen Entzündungsgrad und dem immunhistologischen Signal von TIMP-2 in den Zellen der mittleren Lamina propria in ihrer Gesamtheit. Möglicherweise ist dies als Gegenregulation auf eine verstärkte MMP-Expression anzusehen.

5.3.6 MMPs und TIMPs bei der Parodontitis des Hundes

Die in den vorausgegangenen Abschnitten zitierten Untersuchungen wurden vorwiegend an vom Menschen stammendem Untersuchungsmaterial durchgeführt.

KRYSHTALSKYJ und Mitarbeiter (1986) untersuchen in einer experimentellen Studie an zwei männlichen Beagle-Hunden mittels SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis), Fluorographie und histologischen Untersuchungen die Korrelation von kollagenolytischen Enzymen und ihren Inhibitoren in der Sulkusflüssigkeit mit klinischen und histologischen Veränderungen. Die Untersuchungen erstrecken sich über einen Zeitraum von 5 Monaten, am Endpunkt der Studie werden die Hunde getötet und die Kiefer für die histologische Untersuchung aufbereitet. Die Untersuchung zeigt an Lokalisationen mit experimentell erzeugter Gingivitis und Parodontitis eine signifikant höhere kollagenolytische Aktivität, eine signifikant niedrigere Aktivität von Kollagenase-Inhibitoren und eine stärkere Produktion von Sulkusflüssigkeit als an den Kontroll-Lokalisationen. Die Studie zeigt auch eine Korrelation zwischen Enzymaktivität und histologischem Erscheinungsbild, also der Infiltration mit Entzündungszellen.

Die kollagenolytische Eigenschaft der von dieser Arbeitsgruppe untersuchten Enzyme lässt vermuten, dass es sich hierbei um Matrix-Metalloproteinasen und ihre Inhibitoren, die TIMPs, handelt, jedoch werden die untersuchten Enzyme nicht genauer benannt.

Unterschiede zwischen dieser Untersuchung und der vorliegenden Arbeit finden sich sowohl in der untersuchten Tierzahl, den Untersuchungsmethoden, dem Untersuchungsmaterial - in der Untersuchung von KRYSHALSKYJ und Mitarbeitern (1986) Sulkusflüssigkeit und histologische Untersuchung der Kiefer postmortem - als auch dem Studienaufbau (experimentell erzeugte Parodontitis versus natürlich vorkommende Parodontitis). Dennoch bestätigen die Untersuchungsergebnisse von KRYSHALSKYJ und Mitarbeitern (1986) die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit.

In der immunhistologischen Untersuchung von SCHWARZ und Mitarbeitern (2007) zur parodontalen Wundheilung nach nicht-chirurgischer Parodontalbehandlung mittels Er:YAG-Laser werden ebenfalls Beagle-Hunde verwendet. Auch hier werden die Tiere zur histologischen Aufarbeitung der Kiefer getötet. SCHWARZ und Mitarbeiter (2007) können die Expression von MMP-8 im Entzündungszellinfiltrat darstellen, insbesondere an Lokalisationen mit aktiver Alveolarknochenresorption. Auch wenn sich der Studienaufbau von jenem der vorliegenden Arbeit unterscheidet, kann somit eine Parallele gezogen werden.

PAULA-SILVA und Mitarbeiter (2010) können in einer immunhistologischen Studie an 15 Hunden zeigen, dass es bei der apikalen Parodontitis an erkrankten, aber unbehandelten Zähnen zur vermehrten MMP-Expression kommt. Allerdings muss beachtet werden, dass es sich bei der apikalen Parodontitis um ein anderes Krankheitsbild als bei der Parodontitis handelt und dass sich die Fragestellung dieser Untersuchung von jener der vorliegenden Arbeit unterscheidet.

5.3.7 Zusammenspiel der MMPs

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit kann an verschiedenen Lokalisationen ein ähnliches Verhalten der untersuchten Matrix-Metalloproteinasen beobachtet werden.

Die immunhistologischen Signale von MMP-8 und MMP-9 weisen in der subepithelialen Lamina propria in ihrer Gesamtheit einen statistisch signifikanten, positiven Zusammenhang mit dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad auf. Die immunhistologischen Signale von MMP-2, -3, -8 und -9 zeigen in Entzündungszellen der subepithelialen Lamina propria einen statistisch signifikanten, positiven Zusammenhang mit dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad. Die immunhistologischen Signale von MMP-2 und MMP-9 zeigen in Entzündungszellen der mittleren Lamina propria einen statistisch signifikanten, positiven Zusammenhang mit dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad. Zudem weisen die immunhistologischen Signale von MMP-2, -8 und -9 in Entzündungszellen der

subepithelialen Lamina propria einen statistisch signifikanten, positiven Zusammenhang mit der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt auf.

Dies lässt ein Zusammenspiel der genannten MMPs bei der Zerstörung des parodontalen Halteapparates bei der Parodontitis des Hundes vermuten. Die zuvor bereits zitierten Studien untersuchen ebenfalls jeweils mehrere MMPs und teilweise auch TIMPs.

COROTTI und Mitarbeiter (2009) können im Rahmen der apikalen Parodontitisentwicklung bei der Ratte ein deutliches immunhistologisches Signal für MMP-2 und MMP-9 in den infiltrierenden Entzündungszellen nachweisen und schlussfolgern, dass diese beiden Matrix-Metalloproteinasen eine wichtige Rolle beim Abbau der extrazellulären Matrix spielen.

MÄKELÄ und Mitarbeiter (1994) weisen zymographisch in Mundspülflüssigkeit, im Speichel und in Sulkusflüssigkeit von Parodontitispatienten eine erhöhte Aktivität von MMP-2 und MMP-9 im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe nach. Auch diese Autoren leiten daraus ab, dass MMP-2 und -9 zur parodontitisassoziierten Gewebszerstörung beitragen.

RAI und Mitarbeiter (2008) vergleichen mittels ELISA-Technik die Spiegel von MMP-2 und -9 aus Sulkusflüssigkeit und MMP-8 aus dem Speichel von humanen Patienten mit Gingivitis oder Parodontitis mit denen einer parodontal gesunden Kontrollgruppe. Parodontitispatienten weisen hierbei signifikant höhere Spiegel von MMP-8 und -9 auf, als die beiden Vergleichsgruppen, der MMP-2-Spiegel ist hingegen erniedrigt. RAI und Mitarbeiter (2008) stellen eine Korrelation zwischen den Spiegeln der untersuchten Matrix-Metalloproteinasen mit dem Schweregrad der klinischen Befunde fest und bezeichnen diese deshalb als potentielle Biomarker bei der Diagnose einer Parodontitis oder Gingivitis. Die Bedeutung der untersuchten Matrix-Metalloproteinasen für die Gewebszerstörung im Rahmen einer Parodontitis sehen die Autoren darin begründet, dass MMP-8 sich durch die Spaltung von Kollagen Typ I und III auszeichnet, was bei der parodontitisassoziierten Gewebszerstörung, nicht aber bei physiologischen Gewebsumbauprozessen eine Rolle spielt, und dass MMP-2 und -9 in Kombination nahezu alle Bestandteile der extrazellulären Matrix spalten können.

EJEIL und Mitarbeiter (2003) können mittels Zymographie eine Zunahme der aktiven Formen von MMP-2 und -9 sowie der pro-Form von MMP-9 bei einem Kollagenfaserverlust zeigen. Mittels Dot-Blot-Verfahren können sie ebenfalls zeigen, dass es eine Korrelation zwischen der Zunahme von MMP-1, -9 und -13 mit dem Verlust von Kollagenfasern in erkrankter humaner Gingiva gibt. EJEIL und Mitarbeiter (2003) ziehen die Schlussfolgerung, dass diese Matrix-Metalloproteinasen am Abbau der extrazellulären Matrix bei der Parodontitis bedeutsam sind. Zudem weisen EJEIL und Mitarbeiter (2003) mittels Dot-Blot-Verfahren eine Kor-

relation zwischen der Zunahme von TIMP-1 mit dem Verlust von Kollagenfasern in erkrankter humaner Gingiva nach.

SOELL und Mitarbeiter (2002) befassen sich genauer mit der Frage, ob es bei einem Parodontitisschub zu einer Aktivierung von pro-Formen der Matrix-Metalloproteinasen oder zu einem Ungleichgewicht zwischen den MMPs und ihren Inhibitoren kommt. Sie vergleichen die Spiegel, den Anteil der aktiven Formen und die Aktivität von MMP-1, -2, -3 und -9 sowie die Spiegel von TIMP-1 und -2 im Gewebewasserüberstand von Gingivabiotaten und der Sulkusflüssigkeit von humanen Parodontitispatienten mit einer parodontal gesunden Kontrollgruppe. Mittels ELISA-Technik kann ein signifikanter Anstieg aller untersuchter MMPs in den Gewebswasserproben und der Sulkusflüssigkeit der Parodontitispatienten festgestellt werden. Die Spiegel von TIMP-1 und TIMP-2 in den Gewebswasserproben und der Sulkusflüssigkeit der Parodontitispatienten sind hingegen signifikant erniedrigt. Die Aktivität von MMP-1, -2, -3 und -9 ist in Gewebswasserproben und der Sulkusflüssigkeit von Parodontitispatienten im Vergleich zur parodontal gesunden Kontrollgruppe signifikant erhöht. Wird der Anteil der aktivierten MMPs in Gewebswasserproben und der Sulkusflüssigkeit von Parodontitispatienten mit dem der Kontrollgruppe verglichen, ergeben sich jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede. SOELL und Mitarbeiter (2002) ziehen daraus die Schlussfolgerung, dass ein Ungleichgewicht zwischen den MMPs und den TIMPs - genauer gesagt ein Anstieg der MMPs und ein Abfall der TIMPs - für das Fortschreiten einer Parodontitis verantwortlich sind. Dies bestätigen auch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit.

5.3.8 Zellulärer Ursprung der MMP-Produktion

Die gesteigerte MMP-Expression findet in der vorliegenden Arbeit vornehmlich in Entzündungszellen statt, geht also mit entzündlich bedingten Veränderungen der kaninen Gingiva einher. Allerdings kann eine MMP-Expression im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht nur in Entzündungszellen dargestellt werden. Vielmehr ist es so, dass alle untersuchten MMPs und TIMPs sowohl in gesunder als auch erkrankter Gingiva in epithelialen Zellen, Entzündungszellen, Fibrozyten und Fibroblasten sowie in Endothelzellen immunhistologisch dargestellt werden können. Unterschiede finden sich bei den einzelnen Patienten in der Anzahl positiver Zellen und der immunhistologischen Signalintensität. Somit kann auch in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass MMPs nicht nur bei pathologischen Prozessen eine Rolle spielen, sondern auch bei physiologischen Zuständen, wie beispielsweise dem Gewebsremodelling. Extrazelluläre, faserassoziierte Reaktionen können im Rahmen der

vorliegenden Arbeit im Alveolarknochenbereich immunhistologisch zwar gezeigt werden, statistisch signifikante Zusammenhänge finden sich diesbezüglich jedoch nicht.

Auch in der Literatur wird die Expression von Matrix-Metalloproteinasen in verschiedenen Zellpopulationen beschrieben.

PAULA-SILVA und Mitarbeiter (2010) untersuchen in einer immunhistologischen Studie an 15 Hunden die Expression von MMP-1, -2, -8 und -9 bei der experimentell erzeugten apikalen Parodontitis sowie der folgenden Wurzelkanalbehandlung. An erkrankten, aber unbehandelten Zähnen werden in dieser Untersuchung vermehrt MMPs exprimiert. Die MMPs werden vor allem in mononukleären Zellen und Fibroblasten exprimiert und nur in geringem Maße in neutrophilen Granulozyten. An gesunden Zähnen exprimieren über 50 % der Fibroblasten MMP-1, -2 und -8. An erkrankten Zähnen exprimieren vorwiegend mononukleäre Zellen MMPs (PAULA-SILVA et al., 2010).

MÄKELÄ und Mitarbeiter (1994) identifizieren mittels *in situ*-Hybridisierung Granulozyten, gingivale Keratinozyten und epitheliale Zellen der Speicheldrüsen als Produzenten von MMP-9, MMP-2 weisen sie in Fibroblasten nach.

In der Untersuchung von MEIKLE und Mitarbeitern (1994) handelt es sich bei den MMP-produzierenden Zellen um Fibroblasten, Makrophagen und Epithelzellen. Aufgrund der verwendeten Antisera können MEIKLE und Mitarbeiter (1994) jedoch nicht zweifelsfrei zwischen Fibroblasten und Makrophagen unterscheiden.

COROTTI und Mitarbeiter (2009) können in ihrer immunhistologischen Studie an Ratten MMP-2 und MMP-9 in infiltrierenden Entzündungszellen (neutrophilen Granulozyten, Makrophagen, Lymphozyten, Plasmazellen) und Endothelzellen nachweisen. Zudem zeigen osteoblasten- und osteoklastenähnliche Zellen im Grenzgebiet zwischen periapikalen Läsionen und Knochengewebe eine schwache MMP-Expression.

In der eigenen Untersuchung erfolgt bezüglich letztgenannter Zellpopulationen keine weitere statistische Auswertung, da sie in den angefertigten Präparaten nur vereinzelt zu finden sind. Ebenfalls vereinzelt kann eine positive immunhistologische Reaktion nachgewiesen werden. Um genauere Angaben zur Rolle von Osteoblasten und Osteoklasten bei der Parodontitis des Hundes zu machen, sind weitergehende Untersuchungen - beispielsweise mit einer modifizierten Form der Probenentnahme oder eine postmortale Gewinnung von Zahn, Zahnhalteapparat und angrenzendem Alveolarknochen - notwendig.

TERVAHARTIALA und Mitarbeiter (2000) untersuchen humane Gingivaproben und Sulkusflüssigkeit durch *in situ*-Hybridisierung, Immunhistologie und Western-Blotting. MMP-2, -7, -8 und -13 werden im Sulkusepithel exprimiert, MMP-7 und -13 zudem in

Fibroblasten und Makrophagen und MMP-8 in neutrophilen Granulozyten. Bei an Parodontitis erkrankter Gingiva finden sich mehr MMP-8 und -13 exprimierende Zellen als in gesunder Gingiva. Ein starker immunhistologischer Nachweis von MMP-8 findet sich in den intrazellulären Granula von neutrophilen Granulozyten. Ebenso kann MMP-8 im Sulkusepithel und der subepithelialen Basalmembran nachgewiesen werden (TERVAHARTIALA et al., 2000).

Unterschiede zur eigenen Untersuchung finden sich in den Untersuchungsmethoden (bei TERVAHARTIALA und Mitarbeitern (2000) neben der Immunhistologie auch *in situ*-Hybridisierung und Western-Blotting) und dem Spektrum der untersuchten MMPs. Eine Gemeinsamkeit ist jedoch die verstärkte Expression von MMP-8 in Entzündungszellen bei an Parodontitis erkrankter Gingiva. TERVAHARTIALA und Mitarbeiter (2000) spezifizieren dies auf die neutrophilen Granulozyten. Auch SCHWARZ und Mitarbeiter (2007) weisen in ihrer immunhistologischen Untersuchung zur parodontalen Wundheilung an Beagle-Hunden MMP-8 im makrophagen- und plasmazellreichen Entzündungszellinfiltrat nach. In der eigenen Untersuchung werden neutrophile Granulozyten, Makrophagen, Plasmazellen und Lymphozyten unter dem Oberbegriff Entzündungszellen zusammengefasst.

5.3.9 Inhibition von Matrix-Metalloproteinasen als möglicher Therapieansatz bei der Parodontitis und anderen Erkrankungen

Das Ziel der Erforschung der Matrix-Metalloproteinasen muss natürlich ein therapeutischer Nutzen sein. Da Matrix-Metalloproteinasen entscheidend zur Gewebszerstörung im Rahmen der Parodontitis beitragen, ist ihre Inhibition ein interessanter Ansatzpunkt bei der Parodontitistherapie.

Tetracycline besitzen, unabhängig von ihrer antimikrobiellen Wirkung, die Fähigkeit, die Aktivität von Matrix-Metalloproteinasen zu hemmen (GOLUB et al., 1994). Verschiedene humanmedizinische Studien untersuchen den Einsatz von Doxycyclin oder des halbsynthetischen Tetracyclinderivats Minocyclin bei der Parodontitistherapie (GOLUB et al., 1997; BASEGMEZ et al., 2011; GILOWSKI et al., 2012).

Da die bei der chronischen Parodontitis fortschreitende Zerstörung des Zahnhalteapparates zum Großteil durch die überschießende Immunabwehr des betroffenen Organismus und weniger durch direkte mikrobielle Wirkungen hervorgerufen wird, richten sich aktuelle Therapieansätze an eine Modulation der Wirtsantwort. Chemisch modifizierte Tetracycline (CMTs) sind Derivate der Tetracycline, die in der Humanmedizin als mögliche Behandlungsoption der Parodontitis angesehen werden. CMTs modulieren die Immunantwort

eines Wirtsorganismus, eine antimikrobielle Wirkung fehlt ihnen jedoch, so dass es nicht zur Entwicklung einer resistenten Bakterienflora oder unerwünschter gastrointestinaler Nebenwirkungen kommt. Die Wirkung der CMTs beruht auf der Hemmung pathologisch erhöhter Spiegel von Matrix-Metalloproteinasen und Entzündungsmediatoren. Die Knochenresorption wird durch Beeinflussung von Osteoblasten und eine apoptotische Wirkung auf Osteoklasten gehemmt (AGNIHOTRI und GAUR, 2012). Außer dem potentiellen Einsatz von CMTs als MMP-Inhibitoren in der Parodontitistherapie gibt es auch entsprechende Untersuchungen zu ihrem möglichen Einsatz bei der rheumatoiden Arthritis, bei Diabetes mellitus-assoziierten Erkrankungen oder als Metastasierungsinhibitoren bei verschiedenen Krebserkrankungen (AGNIHOTRI und GAUR, 2012).

Einschränkend ist hierzu jedoch zu sagen, dass bislang trotz intensiver Forschung zur Entwicklung von MMP-Inhibitoren bei verschiedenen Krankheitsbildern des Menschen Doxycyclin in subantimikrobieller Dosierung zur Behandlung der Parodontitis der einzige Ansatzpunkt ist, der sich auch in der klinischen Testphase als erfolgreich und ausreichend sicher erwiesen hat. Dennoch werden die MMPs in der Humanmedizin als nach wie vor vielversprechendes Ziel bei der Therapie einer Vielzahl von Krankheitsbildern angesehen, wobei heutzutage das Hauptaugenmerk auf der Entwicklung und Erforschung von selektiven MMP-Inhibitoren liegt (DORMÁN et al., 2010; SHI et al., 2012)

Bezüglich der Tierart Hund gibt es ebenfalls Untersuchungen zum Einsatz von Doxycyclin im Rahmen der Parodontitistherapie.

ZETNER und ROTHMÜLLER (2002) zeigen, dass die lokale Applikation des Doxycyclin-haltigen Periozeutikums Doxyrobe® (Pfizer) in Zahnfleischtaschen des Hundes gegenüber einer alleinigen KÜRRETAG der Taschen zu einer signifikanten Verringerung des Gingivitisindex, der Zahnfleischtaschentiefe und des Attachmentverlustes führt. Ebenso nimmt die subgingivale Plaquemenge signifikant ab. Allerdings ist Doxyrobe® derzeit in Deutschland nicht mehr zugelassen und erhältlich. Ein entsprechendes humanmedizinisches Präparat ist Atridox® (Tolmar GmbH). Ob dieses Präparat neben seiner antimikrobiellen Wirkung auch einen Einfluss auf Matrix-Metalloproteinasen hat, ist nicht untersucht, wird aber diskutiert (JORGENSEN et al., 2004; TOMASI und WENNSTRÖM, 2004; ATRIDOX®, 2008; SANDHYA et al., 2011). STAUDACHER (2011) beschreibt als Alternative zu speziellen zahnmedizinischen Präparaten die Umwidmung von tetracyclinhaltigen Augensalben, welche zwei- bis dreimal täglich auf die erkrankte Gingiva appliziert werden können.

KIM und Mitarbeiter (2013) geben die orale subantimikrobielle Doxycyclindosis beim Beagle mit 2 mg pro Kilogramm Körpergewicht und Tag an. Bei dieser Dosierung kann ein signifikanter Rückgang des Attachmentverlustes und der Blutungsneigung der Gingiva beobachtet werden. Zudem kann bei einer Dosierung von 1 bzw. von 2 mg Doxycyclin pro Kilogramm Körpergewicht und Tag zymographisch ein signifikanter Rückgang der Aktivität von MMP-2 und MMP-9 im Gingivagewebe beobachtet werden. Die Autoren halten aber vor einem tatsächlichen klinischen, peroralen Einsatz von Doxycyclin zur Behandlung der Parodontitis beim Hund weitergehende Untersuchungen für notwendig.

In der vorliegenden Arbeit konnte die Rolle von MMP-2, -3, -8 und -9 bei der Parodontitis des Hundes dargelegt werden. Es handelt sich hierbei um grundlegende Erkenntnisse bezüglich der Rolle der Matrix-Metalloproteinasen bei der kaninen Parodontitis. Therapiebezogene Untersuchungen wurden nicht durchgeführt. Dennoch können, unter Berücksichtigung der bereits vorliegenden Erkenntnisse aus der Veterinär- und Humanmedizin, Matrix-Metalloproteinasen als ein Ziel der Parodontitisbehandlung angesehen werden. Weitergehende Untersuchungen sind diesbezüglich jedoch notwendig.

In der Humanmedizin ist desweiteren ein Rückgang des MMP-Spiegels bzw. der MMP-Aktivität nach parodontaler Therapie beschrieben (MÄKELÄ et al., 1994; MESCHIARI et al., 2013). Dies wird im Rahmen der vorliegenden Arbeit ebenfalls nicht untersucht, da der Studienaufbau nur eine einmalige Beprobung der Patienten vor der parodontalen Behandlung umfasst. Zur weiteren Abklärung wären hier weitergehende Untersuchungen im Sinne einer Beprobung der Patienten vor und nach Therapie notwendig.

5.3.10 Ausblick

In der Humanmedizin ist ein Zusammenhang zwischen der Parodontitis und systemischen Erkrankungen, z.B. kardiovaskulären Erkrankungen, Diabetes mellitus, Frühgeburten, Osteoporose oder respiratorischen Erkrankungen beschrieben (CULLINAN et al., 2009). Der Zusammenhang zwischen der Parodontitis und kardiovaskulären Erkrankungen wird beispielsweise über systemische Entzündungsmarker und Matrix-Metalloproteinasen hergestellt (LOOS et al., 2000; MARCACCINI et al., 2009). Auch für die Tierart Hund gibt es Untersuchungen, die einen Zusammenhang zwischen einer parodontalen Erkrankung und kardiovaskulären Erkrankungen bzw. Veränderungen an Leber und Nieren herstellen (PAVLICA et al., 2008; GLICKMAN et al., 2009).

In der vorliegenden Arbeit werden derartige Zusammenhänge nicht untersucht. Vielmehr wird bei der Auswahl der untersuchten Hunde darauf geachtet, dass im Rahmen der allgemeinen

klinischen und labordiagnostischen Untersuchung keine Hinweise auf systemische Erkrankungen vorliegen. Um diesbezüglich eine Aussage treffen zu können, sind weitergehende Untersuchungen notwendig, beispielsweise an einem ungefilterten Patientenkollektiv, durch Kombination mit einer kardiologischen Untersuchung, Bestimmung des MMP-Spiegels im Blutplasma oder einer Sektion.

Matrix-Metalloproteinasen könnten zudem als Biomarker für Parodontalerkrankungen genutzt werden. RATHNAYAKE und Mitarbeiter (2013) führen hierzu an 451 freiwilligen Studienteilnehmern eine Untersuchung durch. Bei Personen mit hochgradiger Parodontitis sind die Speichel-Konzentrationen von MMP-8 und IL-1 β sowie der Quotient MMP-8/TIMP-1 signifikant erhöht. Diese Biomarker könnten somit für Screening-Untersuchungen an größeren Patientenkollektiven genutzt werden. Bei entsprechendem Bedarf ist ein derartiger Einsatz auch in der Veterinärmedizin denkbar. Aufgrund der im Vergleich zur Untersuchung von RATHNAYAKE und Mitarbeitern (2013) mit 57 untersuchten Hunden nur geringen Tierzahl kann im Rahmen der vorliegenden Arbeit diesbezüglich jedoch keine Aussage getroffen werden.

6 Zusammenfassung

Die Literaturübersicht der vorliegenden Arbeit behandelt die Anatomie der Mundhöhle, der Zähne und des Zahnhalteapparates des Hundes sowie die Pathogenese und Bedeutung der Parodontitis. Im Folgenden werden die Enzymfamilie der Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) und ihre Inhibitoren, die TIMPs, vorgestellt sowie ihre Rolle bei der kaninen und humanen Parodontitis sowie verschiedener weiterer Erkrankungen dargelegt.

Auf Grundlage der vorwiegend humanmedizinischen Literatur wurde folgende Hypothese aufgestellt: Bei der Parodontitis des Hundes kommt es abhängig vom Schweregrad der Erkrankung zu einer gesteigerten Expression von MMPs und zu einer verminderten Expression von TIMPs in der gingivalen Schleimhaut.

Zur Überprüfung dieser Hypothese wurden 57 Hunde einer klinischen und radiologischen Untersuchung der Mundhöhle unterzogen. 12 Hunde wiesen eine gesunde Gingiva und ein gesundes Parodont auf, 20 Hunde eine Gingivitis und 25 Hunde eine gering-, mittel- oder hochgradige Parodontitis. Von den untersuchten Hunden wurden Gingivabiotate gewonnen und diese histologisch mittels HE-gefärbter Präparate untersucht. 12 Hunde wiesen eine physiologische Gingiva auf, in den restlichen Fällen konnte eine gering-, mittel- oder hochgradige Entzündung der gingivalen Schleimhaut festgestellt werden. Die immunhistologische Darstellung von MMP-2, -3, -8 und -9 sowie von TIMP-1 und TIMP-2 erfolgte mittels Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex-Methode. Es wurde eine lichtmikroskopische Auswertung der HE-gefärbten und der immunhistologischen Präparate durchgeführt und die Ergebnisse statistisch ausgewertet.

Es bestehen statistisch signifikante, positive Zusammenhänge zwischen dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad und dem immunhistologischen Signal von MMP-8 und MMP-9 in der subepithelialen Lamina propria in ihrer Gesamtheit, dem immunhistologischen Signal von MMP-2, -3, -8 und -9 in Entzündungszellen der subepithelialen Lamina propria, dem immunhistologischen Signal von MMP-9 in der mittleren Lamina propria in ihrer Gesamtheit sowie dem immunhistologischen Signal von MMP-2 und MMP-9 in Entzündungszellen der mittleren Lamina propria. Zudem bestehen statistisch signifikante, positive Zusammenhänge zwischen Veränderungen im Kollagenfasergehalt und dem immunhistologischen Signal von MMP-2, -8 und -9 in Entzündungszellen der subepithelialen Lamina propria sowie dem immunhistologischen Signal von MMP-9 in der subepithelialen und mittleren Lamina propria in ihrer Gesamtheit.

Die aufgestellte Hypothese, dass es bei der Parodontitis des Hundes abhängig vom Schweregrad der Erkrankung zu einer gesteigerten Expression von MMPs in der gingivalen Schleim-

haut kommt, kann somit für MMP-2, -3, -8, und -9 an den genannten Lokalisationen bestätigt werden.

Bezüglich TIMP-1 und TIMP-2 können keine entsprechenden statistisch signifikanten Zusammenhänge festgestellt werden. Es bestehen jedoch an verschiedenen Lokalisationen statistisch auffällige, negative Zusammenhänge zwischen TIMP-1 bzw. TIMP-2 und dem klinischen Grad der Parodontalerkrankung, zwischen TIMP-1 und dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad sowie zwischen TIMP-1 und Veränderungen im Kollagenfasergehalt. Außerdem besteht ein statistisch auffälliger, positiver Zusammenhang zwischen dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad und dem immunhistologischen Signal von TIMP-2 in den Zellen der mittleren Lamina propria in ihrer Gesamtheit.

Die Hypothese, dass es bei der Parodontitis des Hundes abhängig vom Schweregrad der Erkrankung zu einer verminderten Expression der TIMPs in der gingivalen Schleimhaut kommt, kann somit mit Einschränkungen bestätigt werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in der vorliegenden Arbeit die Expression von MMP-2, -3, -8 und -9 sowie von TIMP-1 und TIMP-2 in der kaninen gingivalen Schleimhaut dargestellt wurde. Im Rahmen der Parodontitis kommt es zu einer verstärkten Expression der untersuchten MMPs und einer tendenziell verminderten Expression der TIMPs. Es lässt sich schlussfolgern, dass es bei Vorliegen einer Parodontitis zu einer tendenziell verminderten Inhibition der MMPs durch die TIMPs kommt und MMP-2, -3, -8 und -9 zur Zerstörung des parodontalen Halteapparates bei der Parodontitis des Hundes beitragen.

7 Summary

The literature section of the present work deals with the anatomy of the canine oral cavity, the teeth and the periodontium as well as the pathogenesis and relevance of periodontal disease. Hereafter, the enzyme family of matrix metalloproteinases (MMPs) and their inhibitors, the TIMPs, are presented as well as their role in canine and human periodontal disease and several other diseases.

Based on the literature, originating from human medicine mainly, it was hypothesized that in canine periodontal disease, depending on severity, an increased expression of MMPs and a decreased expression of TIMPs in gingival mucosa is present.

In order to verify this hypothesis, the oral cavities of 57 dogs were examined clinically and radiologically. In 12 dogs, the gingiva and periodontium were unchanged, in 20 dogs, a gingivitis was present and in 25 dogs, a low, middle or high-grade periodontitis was observed. Gingival biopsies were obtained from the examined dogs and histologically analyzed via HE-stained sections. In 12 dogs, the gingiva was physiologic, in the other dogs, a low, middle or high-grade inflammation of the gingival mucosa was present. The immunohistological detection of MMP-2, -3, -8, and -9 as well as TIMP-1 and TIMP-2 was performed by avidin-biotin-peroxidase-complex-technique. A light microscopic evaluation of the HE-stained and the immunohistological sections was performed and the results were assessed statistically.

Statistically significant, positive correlations were determined between the histological degree of inflammation and the immunohistological signal of MMP-8 and MMP-9 in the subepithelial lamina propria in general, the immunohistological signal of MMP-2, -3, -8 and -9 in inflammatory cells of the subepithelial lamina propria, the immunohistological signal of MMP-9 in the mid lamina propria in general as well as the immunohistological signal of MMP-2 and MMP-9 in inflammatory cells of the mid lamina propria. There are also statistically significant, positive correlations between changes in collagen fiber content and the immunohistological signal of MMP-2, -8 and -9 in inflammatory cells of the subepithelial lamina propria as well as the immunohistological signal of MMP-9 in subepithelial and mid lamina propria in general.

The postulated hypothesis, that in canine periodontal disease, depending on severity, an increased expression of MMPs in gingival mucosa is present can therefore be confirmed for MMP-2, -3, -8, and -9 in the above mentioned localizations.

With regard to TIMP-1 or TIMP-2, respective statistically significant correlations cannot be determined. However, at several localizations, there are statistically noticeable, negative correlations between TIMP-1 and TIMP-2 and the clinical degree of periodontal disease,

between TIMP-1 and the histological degree of inflammation as well as between TIMP-1 and changes in collagen fiber content. Furthermore, a statistically noticeable, positive correlation between the histological degree of inflammation and the immunohistological signal of TIMP-2 in cells of the mid lamina propria in general is present.

The hypothesis that in canine periodontal disease, depending on severity, a decreased expression of TIMPs in gingival mucosa is present can therefore be confirmed with limitations.

In summary, it can be noted that the present study displays the expression of MMP-2, -3, -8 and -9 as well as TIMP-1 and TIMP-2 in canine gingival mucosa. In case of periodontal disease, an increased expression of the named MMPs and a tendentially decreased expression of TIMPs is present. It can be concluded that in case of periodontal disease, a tendentially decreased inhibition of MMPs via TIMPs is present and that MMP-2, -3, -8 and -9 are contributing to the destruction of the periodontium in canine periodontal disease.

8 Literaturverzeichnis

- 1) ACKERMANN, H. (2010) BiAS. für Windows, Biometrische Analyse von Stichproben, Modul Studienplanung. Version 9.08. Hochheim, Darmstadt, Epsilon-Verlag
- 2) AGNIHOTRI, R. und GAUR, S. (2012) Chemically modified tetracyclines: Novel therapeutic agents in the management of chronic periodontitis. Indian Journal of Pharmacology 44, S. 161-167
- 3) ALBANDAR, J. M., BRUNELLE, J. A. und KINGMAN, A. (1999) Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United states, 1988-1994. Journal of Periodontology 70, S. 13-29
- 4) ALBUQUERQUE, C., MORINHA, F., REQUICHA, J., MARTINS, T., DIAS, I., GUEDES-PINTO, H., BASTOS, E. und VIEGAS, C. (2012) Canine periodontitis: The dog as an important model for periodontal studies. Veterinary Journal 191, S. 299-305
- 5) ALLDINGER, S. (2009) Matrix-Metalloproteinasen und ihre Inhibitoren bei viralen demyelinisierenden Erkrankungen am Beispiel der Staupe-Enzephalitis und der murinen Theilervirus-Enzephalomyelitis. Institut für Pathologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Hannover, Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft Service GmbH (Habilitationsschrift)
- 6) ARICAN, M. und CEYLAN, C. (1999) Metalloproteinases in canine experimental traumatic keratoconjunctivitis. Journal of Veterinary Medicine Series a - Physiology Pathology Clinical Medicine 46, S. 527-532
- 7) ATRIDOX® (2008) ATRIDOX® 44 mg-Pulver und Lösungsmittel zur Herstellung eines Zahnfleischgels, Fertigspritzen. Tolmar GmbH, Oberursel (Packungsbeilage)
<http://www.pharmazie.com/graphic/A/33/1-23833.pdf>
- 8) AVDC (2010) Periodontal Disease Classification.
<http://www.avdc.org/nomenclature.html#periostages>
- 9) BAKER, A. H., EDWARDS, D. R. und MURPHY, G. (2002) Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities. Journal of Cell Science 115, S. 3719-3727
- 10) BAKER, A. H., GEORGE, S. J., ZALTSMAN, A. B., MURPHY, G. und NEWBY, A. C. (1999) Inhibition of invasion and induction of apoptotic cell death of cancer cell lines by overexpression of TIMP-3. British Journal of Cancer 79, S. 1347-1355
- 11) BAKER, A. H., ZALTSMAN, A. B., GEORGE, S. J. und NEWBY, A. C. (1998) Divergent effects of tissue inhibitor of metalloproteinase-1, -2, or -3 overexpression on rat vascular smooth muscle cell invasion, proliferation, and death in vitro - TIMP-3 promotes apoptosis. Journal of Clinical Investigation 101, S. 1478-1487
- 12) BÁNYAI, L. und PATTHY, L. (1999) The NTR module: Domains of netrins, secreted frizzled related proteins, and type I procollagen C-proteinase enhancer protein are homologous with tissue inhibitors of metalloproteases. Protein Science 8, S. 1636-1642

- 13) BARNES, A., BEE, A., BELL, S., GILMORE, W., MEE, A., MORRIS, R. und CARTER, S. D. (2000) Immunological and inflammatory characterisation of three canine cell lines: K1, K6 and DH82. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 75, S. 9-25
- 14) BASEGMEZ, C., BERBER, L. und YALCIN, F. (2011) Clinical and Biochemical Efficacy of Minocycline in Nonsurgical Periodontal Therapy: A Randomized Controlled Pilot Study. *Journal of Clinical Pharmacology* 51, S. 915-922
- 15) BEIN, K. und SIMONS, M. (2000) Thrombospondin type 1 repeats interact with matrix metalloproteinase 2 - Regulation of metalloproteinase activity. *Journal of Biological Chemistry* 275, S. 32167-32173
- 16) BEKLEN, A., TÜTER, G., SORSA, T., HANEMAAIJER, R., VIRTANEN, I., TERVAHARTIALA, T. und KONTTINEN, Y. T. (2006) Gingival tissue and crevicular fluid co-operation in adult periodontitis. *Journal of Dental Research* 85, S. 59-63
- 17) BIANCU, S., ERICSSON, I. und LINDHE, J. (1995) Periodontal-Ligament Tissue-Reactions to Trauma and Gingival Inflammation - an Experimental-Study in the Beagle Dog. *Journal of Clinical Periodontology* 22, S. 772-779
- 18) BIRKEDAL-HANSEN, H. (1993) Role of Cytokines and Inflammatory Mediators in Tissue Destruction. *Journal of Periodontal Research* 28, S. 500-510
- 19) BIRKEDAL-HANSEN, H., WELLS, B. R., LIN, H. Y., CAUFIELD, P. W. und TAYLOR, R. E. (1984) Activation of Keratinocyte-Mediated Collagen (Type-I) Breakdown by Suspected Human Periodontopathogen - Evidence of a Novel Mechanism of Connective-Tissue Breakdown. *Journal of Periodontal Research* 19, S. 645-650
- 20) BISWAS, C., ZHANG, Y., DECASTRO, R., GUO, H. M., NAKAMURA, T., KATAOKA, H. und NABESHIMA, K. (1995) Human Tumor Cell-Derived Collagenase Stimulatory Factor (Renamed Emmprin) Is a Member of the Immunoglobulin Superfamily. *Cancer Research* 55, S. 434-439
- 21) BODE, W. (1995) A Helping Hand for Collagenases - the Hemopexin-Like Domain. *Structure* 3, S. 527-530
- 22) BODE, W., GOMISRUTH, F. X. und STOCKLER, W. (1993) Astacins, Serralysins, Snake-Venom and Matrix Metalloproteinases Exhibit Identical Zinc-Binding Environments (Hexhxxgxxh and Met-Turn) and Topologies and Should Be Grouped into a Common Family, the Metzincins. *Febs Letters* 331, S. 134-140
- 23) BORNBAUM, J. (2012) Immunhistologische Untersuchung ausgewählter Matrixmetalloproteinasen (MMPs) und deren Inhibitoren in der neoplastisch veränderten Mamma und den assoziierten Lymphknoten von Hunden. Institut für Pathologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Hannover, Tierärztliche Hochschule Hannover (Dissertation)
- 24) BOSMAN, F. T. und STAMENKOVIC, I. (2003) Functional structure and composition of the extracellular matrix. *Journal of Pathology* 200, S. 423-428

- 25) BREW, K., DINAKARPANDIAN, D. und NAGASE, H. (2000) Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochimica Et Biophysica Acta - Protein Structure and Molecular Enzymology* 1477, S. 267-283
- 26) BREW, K. und NAGASE, H. (2010) The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): An ancient family with structural and functional diversity. *Biochimica Et Biophysica Acta - Molecular Cell Research* 1803, S. 55-71
- 27) CAPIK, I. (2010) Periodontal Health vs. Various Preventive Means in Toy Dog Breeds. *Acta Veterinaria Brno* 79, S. 637-645
- 28) CHESLER, L., GOLDE, D. W., BERSCH, N. und JOHNSON, M. D. (1995) Metalloproteinase Inhibition and Erythroid Potentiation Are Independent Activities of Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1. *Blood* 86, S. 4506-4515
- 29) COROTTI, M. V., ZAMBUZZI, W. F., PAIVA, K. B., MENEZES, R., PINTO, L. C., LARA, V. S. und GRANJEIRO, J. M. (2009) Immunolocalization of matrix metalloproteinases-2 and -9 during apical periodontitis development. *Archives of Oral Biology* 54, S. 764-771
- 30) COUGHLAN, A. R., ROBERTSON, D. H. L., BENNETT, D., MAY, C., BEYNON, R. J. und CARTER, S. D. (1998) Matrix metalloproteinases 2 and 9 in canine rheumatoid arthritis. *Veterinary Record* 143, S. 219-223
- 31) CULLINAN, M. P., FORD, P. J. und SEYMOUR, G. J. (2009) Periodontal disease and systemic health: current status. *Australian Dental Journal* 54, S. S62-S69
- 32) CYTEL-STUDIO-STATXACT (2010) Statistical Software for Exact Non-parametric Inference, User Manual. Vers. 9.0.0. Cambridge, Massachusetts, USA, Cytel Inc.
- 33) DAHAN, M., NAWROCKI, B., ELKAIM, R., SOELL, M., BOLCATO-BELLEMIN, A. L., BIREMBAUT, P. und TENENBAUM, H. (2001) Expression of matrix metalloproteinases in healthy and diseased human gingiva. *Journal of Clinical Periodontology* 28, S. 128-136
- 34) DIXON, W. J. C. E. (1993) BMDP Statistical Software Manual, Volume 1 and 2. Berkeley, Los Angeles, London, University of California Press
- 35) DOCHERTY, A. J. P., LYONS, A., SMITH, B. J., WRIGHT, E. M., STEPHENS, P. E., HARRIS, T. J. R., MURPHY, G. und REYNOLDS, J. J. (1985) Sequence of Human-Tissue Inhibitor of Metalloproteinases and Its Identity to Erythroid-Potentiating Activity. *Nature* 318, S. 66-69
- 36) DONG, W., XIANG, J., LI, C., CAO, Z. und HUANG, Z. (2009) Increased expression of extracellular matrix metalloproteinase inducer is associated with matrix metalloproteinase-1 and-2 in gingival tissues from patients with periodontitis. *Journal of Periodontal Research* 44, S. 125-132
- 37) DORMÁN, G., CSEH, S., HAJDÚ, I., BARNÁ, L., KÓNYA, D., KUPAI, K., KOVÁCS, L. und FERDINANDY, P. (2010) Matrix Metalloproteinase Inhibitors A Critical Appraisal of Design Principles and Proposed Therapeutic Utility. *Drugs* 70, S. 949-964

- 38) EGEBLAD, M. und WERB, Z. (2002) New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nature Reviews Cancer* 2, S. 161-174
- 39) EICKHOFF, M. (2005) Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde bei Klein- und Heimtieren. Stuttgart, Enke Verlag
- 40) EICKHOFF, M. (2008) Das Hundezahnbuch. Stuttgart, Parey
- 41) EICKHOFF, M. (2012) Röntgendiagnostik in der Tierzahnmedizin. *Kleintierpraxis* 6, S. 320-334
- 42) EJEIL, A. L., IGONDJO-TCHEN, S., GHORNRASSENI, S., PELLAT, B., GODEAU, G. und GOGLY, B. (2003) Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in healthy and diseased human Gingiva. *Journal of Periodontology* 74, S. 188-195
- 43) ELLIS, S. M., NABESHIMA, K. und BISWAS, C. (1989) Monoclonal-Antibody Preparation and Purification of a Tumor-Cell Collagenase-Stimulatory Factor. *Cancer Research* 49, S. 3385-3391
- 44) ELTER, J. R., HINDERLITER, A. L., OFFENBACHER, S., BECK, J. D., CAUGHEY, M., BRODALA, N. und MADIANOS, P. N. (2006) The effects of periodontal therapy on vascular endothelial function: A pilot trial. *American Heart Journal* 151, S. 47.e1-47.e6
- 45) FAHRENKRUG, P. (2007) Zahnerkrankungen. In *Klinik der Hundekrankheiten*. 3. Auflage. Hrsg. GRÜNBAUM, E.-G. und SCHIMKE, E. Stuttgart, Enke Verlag
- 46) FOWLKES, J. L., ENGHILD, J. J., SUZUKI, K. und NAGASE, H. (1994) Matrix Metalloproteinases Degrade Insulin-Like Growth Factor-Binding Protein-3 in Dermal Fibroblast-Cultures. *Journal of Biological Chemistry* 269, S. 25742-25746
- 47) FOWLKES, J. L., THRAILKILL, K. M., SERRA, D. M., SUZUKI, K. und NAGASE, H. (1995) Matrix metalloproteinases as insulin-like growth factor binding protein-degrading proteinases. *Progress in growth factor research* 6, S. 255-263
- 48) GILBERT, S. J., WOTTON, P. R., TARLTON, J. F., DUANCE, V. C. und BAILEY, A. J. (1997) Increased expression of promatrix metalloproteinase-9 and neutrophil elastase in canine dilated cardiomyopathy. *Cardiovascular Research* 34, S. 377-383
- 49) GIŁOWSKI, Ł., KONDIŁELNIK, P., WIENCH, R., PŁOCICA, I., STROJEK, K. und KRZEMIŃSKI, T. F. (2012) Efficacy of short-term adjunctive subantimicrobial dose doxycycline in diabetic patients - randomized study. *Oral Diseases* 18, S. 763-770
- 50) GLICKMAN, L. T., GLICKMAN, N. W., MOORE, G. E., GOLDSTEIN, G. S. und LEWIS, H. B. (2009) Evaluation of the risk of endocarditis and other cardiovascular events on the basis of the severity of periodontal disease in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 234, S. 486-494

- 51) GOLUB, L. M., LEE, H. M., GREENWALD, R. A., RYAN, M. E., SORSA, T., SALO, T. und GIANNOBILE, W. V. (1997) A matrix metalloproteinase inhibitor reduces bone-type collagen degradation fragments and specific collagenases in gingival crevicular fluid during adult periodontitis. *Inflammation Research* 46, S. 310-319
- 52) GOLUB, L. M., WOLFF, M., ROBERTS, S., LEE, H. M., LEUNG, M. und PAYONK, G. S. (1994) Treating Periodontal-Diseases by Blocking Tissue-Destructive Enzymes. *Journal of the American Dental Association* 125, S. 163-169
- 53) GOMIS-RÜTH, F. X., GOHLKE, U., BETZ, M., KNAUPER, V., MURPHY, G., LOPEZOTIN, C. und BODE, W. (1996) The helping hand of collagenase-3 (MMP-13): 2.7 angstrom crystal structure of its C-terminal haemopexin-like domain. *Journal of Molecular Biology* 264, S. 556-566
- 54) GORREL, C. (2006) Zahnmedizin bei Klein- und Heimtieren. München, Elsevier
- 55) GROSS, J. und LAPIÈRE, C. M. (1962) Collagenolytic Activity in Amphibian Tissues - a Tissue Culture Assay. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 48, S. 1014-1022
- 56) HAMP, S. E. und LINDBERG, R. (1977) Histopathology of Spontaneous Periodontitis in Dogs. *Journal of Periodontal Research* 12, S. 46-54
- 57) HAMP, S. E., OLSSON, S. E., FARSOMADSEN, K., VIKLANDS, P. und FORNELL, J. (1984) A Macroscopic and Radiologic Investigation of Dental Diseases of the Dog. *Veterinary Radiology* 25, S. 86-92
- 58) HARDHAM, J., DREIER, K., WONG, J., SFINTESCU, C. und EVANS, R. T. (2005) Pigmented-anaerobic bacteria associated with canine periodontitis. *Veterinary Microbiology* 106, S. 119-128
- 59) HARDY, D. C., ROSS, J. H., SCHUYLER, C. A., LEITE, R. S., SLATE, E. H. und HUANG, Y. (2012) Matrix metalloproteinase-8 expression in periodontal tissues surgically removed from diabetic and non-diabetic patients with periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* 39, S. 249-255
- 60) HARVEY, C. E. (2005) Management of periodontal disease: Understanding the options. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice* 35, S. 819-836
- 61) HARVEY, C. E., SHOFRER, F. S. und LASTER, L. (1994) Association of age and body weight with periodontal disease in North American dogs. *Journal of Veterinary Dentistry* 11, S. 94-105
- 62) HAYAKAWA, T., YAMASHITA, K., OHUCHI, E. und SHINAGAWA, A. (1994) Cell Growth-Promoting Activity of Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-2 (Timp-2). *Journal of Cell Science* 107, S. 2373-2379
- 63) HAYAKAWA, T., YAMASHITA, K., TANZAWA, K., UCHIJIMA, E. und IWATA, K. (1992) Growth-Promoting Activity of Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1 (Timp-1) for a Wide-Range of Cells - a Possible New Growth-Factor in Serum. *Febs Letters* 298, S. 29-32

- 64) HERATH, T. D. K., WANG, Y., SENEVIRATNE, C. J., DARVEAU, R. P., WANG, C. Y. und JIN, L. J. (2013) The expression and regulation of matrix metalloproteinase-3 is critically modulated by *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide with heterogeneous lipid A structures in human gingival fibroblasts. *Bmc Microbiology* 13, S. 1-12
- 65) HERMAN, M. P., SUKHOVA, G. K., KISIEL, W., FOSTER, D., KEHRY, M. R., LIBBY, P. und SCHONBECK, U. (2001) Tissue factor pathway inhibitor-2 is a novel inhibitor of matrix metalloproteinases with implications for atherosclerosis. *Journal of Clinical Investigation* 107, S. 1117-1126
- 66) HERNANDEZ, M., DUTZAN, N., GARCIA-SESNICH, J., ABUSLEME, L., DEZEREGA, A., SILVA, N., GONZALEZ, F. E., VERNAL, R., SORSA, T. und GAMONAL, J. (2011) Host-Pathogen Interactions in Progressive Chronic Periodontitis. *Journal of Dental Research* 90, S. 1164-1170
- 67) HERNÁNDEZ RÍOS, M., SORSA, T., OBREGÓN, F., TERVAHARTIALA, T., VALENZUELA, M. A., POZO, P., DUTZAN, N., LESAFFRE, E., MOLAS, M. und GAMONAL, J. (2009) Proteolytic roles of matrix metalloproteinase (MMP)-13 during progression of chronic periodontitis: initial evidence for MMP-13/MMP-9 activation cascade. *Journal of Clinical Periodontology* 36, S. 1011-1017
- 68) HOLM, S. (1979) A Simple Sequentially Rejective Multiple Test Procedure. *Scandinavian Journal of Statistics* 6, S. 65-70
- 69) HSU, S. M., RAINE, L. und FANGER, H. (1981) The Use of Antiavidin Antibody and Avidin - Biotin - Peroxidase Complex in Immunoperoxidase Techniques. *American Journal of Clinical Pathology* 75, S. 816-821
- 70) HUA, H., LI, M., LUO, T., YIN, Y. und JIANG, Y. (2011) Matrix metalloproteinases in tumorigenesis: an evolving paradigm. *Cellular and Molecular Life Sciences* 68, S. 3853-3868
- 71) IMAI, K., HIRAMATSU, A., FUKUSHIMA, D., PIERSCHBACHER, M. D. und OKADA, Y. (1997) Degradation of decorin by matrix metalloproteinases: Identification of the cleavage sites, kinetic analyses and transforming growth factor-beta 1 release. *Biochemical Journal* 322, S. 809-814
- 72) IYER, R. P., PATTERSON, N. L., FIELDS, G. B. und LINDSEY, M. L. (2012) The history of matrix metalloproteinases: milestones, myths, and misperceptions. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* 303, S. 919-930
- 73) JOHNSTON, T. P., MONDAL, P., PAL, D., MACGEE, S., STROMBERG, A. J. und ALUR, H. (2011) Canine Periodontal Disease Control Using a Clindamycin Hydrochloride Gel. *Journal of Veterinary Dentistry* 28, S. 224-229
- 74) JORGENSEN, M. G., SAFARIAN, A., DANESHMAND, N., KEIM, R. J. und SLOTS, J. (2004) Initial antimicrobial effect of controlled-release doxycycline in subgingival sites. *Journal of Periodontal Research* 39, S. 315-319
- 75) JUNQUEIRA, L. C. U., BIGNOLAS, G. und BRENTANI, R. R. (1979) Picrosirius Staining Plus Polarization Microscopy, a Specific Method for Collagen Detection in Tissue-Sections. *Histochemical Journal* 11, S. 447-455

- 76) KIM, S. E., KIM, S., JEONG, M., LEE, Y., AHN, J. T., PARK, Y. W., AHN, J. S., LEE, E., RYU, D. Y. und SEO, K. (2013) Experimental determination of a subantimicrobial dosage of doxycycline hyclate for treatment of periodontitis in Beagles. *American Journal of Veterinary Research* 74, S. 130-135
- 77) KINANE, D. F., SHIBA, H. und HART, T. C. (2005) The genetic basis of periodontitis. *Periodontology* 2000 39, S. 91-117
- 78) KÖHRMANN, A., KAMMERER, U., KAPP, M., DIETL, J. und ANACKER, J. (2009) Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) in primary human breast cancer and breast cancer cell lines: New findings and review of the literature. *Bmc Cancer* 9, S. 1-20
- 79) KÖNIG, H. E., SÓTONYI, P., RUBERTE, J. und LIEBICH, H.-G. (2011) Kopfdarm. In *Anatomie der Haussäugetiere*. 5. Auflage. Hrsg. KÖNIG, H. E. und LIEBICH, H.-G. Stuttgart, Schattauer
- 80) KRYSHALSKYI, E., SODEK, J. und FERRIER, J. M. (1986) Correlation of collagenolytic enzymes and inhibitors in gingival crevicular fluid with clinical and microscopic changes in experimental periodontitis in the dog. *Archives of Oral Biology* 31, S. 21-31
- 81) KUBOTA, T., ITAGAKI, M., HOSHINO, C., NAGATA, M., MOROZUMI, T., KOBAYASHI, T., TAKAGI, R. und YOSHIE, H. (2008) Altered gene expression levels of matrix metalloproteinases and their inhibitors in periodontitis-affected gingival tissue. *Journal of Periodontology* 79, S. 166-173
- 82) KUBOTA, T., NOMURA, T., TAKAHASHI, T. und HARA, K. (1996) Expression of mRNA for matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in periodontitis-affected human gingival tissue. *Archives of Oral Biology* 41, S. 253-262
- 83) KYLLAR, M. und WITTER, K. (2005) Prevalence of dental disorders in pet dogs. *Veterinari Medicina* 50, S. 496-505
- 84) LECO, K. J., KHOKHA, R., PAVLOFF, N., HAWKES, S. P. und EDWARDS, D. R. (1994) Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-3 (Timp-3) Is an Extracellular Matrix-Associated Protein with a Distinctive Pattern of Expression in Mouse Cells and Tissues. *Journal of Biological Chemistry* 269, S. 9352-9360
- 85) LEE, W., AITKEN, S., SODEK, J. und MCCULLOCH, C. A. (1995) Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: role of active enzyme in human periodontitis. *Journal of Periodontal Research* 30, S. 23-33
- 86) LEGEROS, R. Z. und SHANNON, I. L. (1979) Crystalline Components of Dental Calculi - Human Vs Dog. *Journal of Dental Research* 58, S. 2371-2377
- 87) LEI, H. Q., FURTH, E. E., KALLURI, R., CHIOU, T., TILLY, K. I., TILLY, J. L., ELKON, K. B., JEFFREY, J. J. und STRAUSS, J. F. (1996) A program of cell death and extracellular matrix degradation is activated in the amnion before the onset of labor. *Journal of Clinical Investigation* 98, S. 1971-1978

- 88) LIEBICH, H.-G. (2010) Funktionelle Histologie der Haussäugetiere und Vögel. Stuttgart, Schattauer
- 89) LIJNEN, H. R. (2001) Plasmin and matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *Thrombosis and Haemostasis* 86, S. 324-333
- 90) LINDHE, J., BERGLUNDH, T., ERICSSON, I., LILJENBERG, B. und MARINELLO, C. (1992) Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. A study in the beagle dog. *Clinical Oral Implants Research* 3, S. 9-16
- 91) LLANO, E., PENDAS, A. M., AZA-BLANC, P., KORNBORG, T. B. und LOPEZ-OTIN, C. (2000) Dm1-MMP, a matrix metalloproteinase from *Drosophila* with a potential role in extracellular matrix remodeling during neural development. *Journal of Biological Chemistry* 275, S. 35978-35985
- 92) LÖE, H. (1967) The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. *Journal of Periodontology* 38, S. 610-616
- 93) LÖE, H. und SILNESS, J. (1963) Periodontal Disease in Pregnancy. I. Prevalence and Severity. *Acta odontologica Scandinavica* 21, S. 533-551
- 94) LOGAN, E. I. (2006) Dietary influences on periodontal health in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice* 36, 1385-1401
- 95) LOOS, B. G., CRAANDIJK, J., HOEK, F. J., WERTHEIM-VAN DILLEN, P. M. E. und VAN DER VELDEN, U. (2000) Elevation of systemic markers related to cardiovascular disease in the peripheral blood of periodontitis patients. *Journal of Periodontology* 71, S. 1528-1534
- 96) LOUKOPOULOS, P., MUNGALL, B. A., STRAW, R. C., THORNTON, J. R. und ROBINSON, W. F. (2003) Matrix metalloproteinase-2 and-9 involvement in canine tumors. *Veterinary Pathology* 40, S. 382-394
- 97) MAIDMENT, J. M., MOORE, D., MURPHY, G. P., MURPHY, G. und CLARK, I. M. (1999) Matrix metalloproteinase homologues from *Arabidopsis thaliana* - Expression and activity. *Journal of Biological Chemistry* 274, S. 34706-34710
- 98) MÄKELÄ, M., SALO, T., UITTO, V. J. und LARJAVA, H. (1994) Matrix Metalloproteinases (Mmp-2 and Mmp-9) of the Oral Cavity - Cellular-Origin and Relationship to Periodontal Status. *Journal of Dental Research* 73, S. 1397-1406
- 99) MANES, S., MIRA, E., BARBACID, M. D., CIPRES, A., FERNANDEZRESA, P., BUESA, J. M., MERIDA, I., ARACIL, M., MARQUEZ, G. und MARTINEZ, C. (1997) Identification of insulin-like growth factor-binding protein-1 as a potential physiological substrate for human stromelysin-3. *Journal of Biological Chemistry* 272, S. 25706-25712
- 100) MARCACCINI, A. M., NOVAES, A. B., JR., MESCHIARI, C. A., SOUZA, S. L., PALIOTO, D. B., SORGI, C. A., FACCIOLI, L. H., TANUS-SANTOS, J. E. und GERLACH, R. F. (2009) Circulating matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) and MMP-9 are increased in chronic periodontal disease and decrease after non-surgical periodontal therapy. *Clinica Chimica Acta* 409, S. 117-122

- 101) MARRETTA, S. M., LEESMAN, M., BURGESS-GASSLER, A., MCCLURE, G. D., JR., BUELOW, M. und FINN, M. (2012) Pilot evaluation of a novel test strip for the assessment of dissolved thiol levels, as an indicator of canine gingival health and periodontal status. *Canadian Veterinary Journal - Revue Veterinaire Canadienne* 53, S. 1260-1265
- 102) MCQUIBBAN, G. A., BUTLER, G. S., GONG, J. H., BENDALL, L., POWER, C., CLARK-LEWIS, I. und OVERALL, C. M. (2001) Matrix metalloproteinase activity inactivates the CXC chemokine stromal cell-derived factor-1. *Journal of Biological Chemistry* 276, S. 43503-43508
- 103) MCQUIBBAN, G. A., GONG, J. H., TAM, E. M., MCCULLOCH, C. A. G., CLARK-LEWIS, I. und OVERALL, C. M. (2000) Inflammation dampened by gelatinase A cleavage of monocyte chemoattractant protein-3. *Science* 289, S. 1202-1206
- 104) MEIKLE, M. C., ATKINSON, S. J., WARD, R. V., MURPHY, G. und REYNOLDS, J. J. (1989) Gingival Fibroblasts Degrade Type-I Collagen Films When Stimulated with Tumor Necrosis Factor and Interleukin-1 - Evidence That Breakdown Is Mediated by Metalloproteinases. *Journal of Periodontal Research* 24, S. 207-213
- 105) MEIKLE, M. C., HEMBRY, R. M., HOLLEY, J., HORTON, C., MCFARLANE, C. G. und REYNOLDS, J. J. (1994) Immunolocalization of Matrix Metalloproteinases and Timp-1 (Tissue Inhibitor of Metalloproteinases) in Human Gingival Tissues from Periodontitis Patients. *Journal of Periodontal Research* 29, S. 118-126
- 106) MESCHIARI, C. A., MARCACCINI, A. M., MOURA, B. C. S., ZUARDI, L. R., TANUS-SANTOS, J. E. und GERLACH, R. F. (2013) Salivary MMPs, TIMPs, and MPO levels in periodontal disease patients and controls. *Clinica Chimica Acta* 421, S. 140-146
- 107) MIHALJEVIĆ, S.-Y. (2010) Zahnradiologie bei Hund und Katze. Hannover, Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG
- 108) MORGENROTH, K., BREMERICH, A. und LANGE, D. E. (1996) Pathologie der Mundhöhle. Stuttgart, Georg Thieme Verlag
- 109) MURPHY, G., ALLAN, J. A., WILLENBROCK, F., COCKETT, M. I., OCONNELL, J. P. und DOCHERTY, A. J. P. (1992a) The Role of the C-Terminal Domain in Collagenase and Stromelysin Specificity. *Journal of Biological Chemistry* 267, S. 9612-9618
- 110) MURPHY, G., HOUBRECHTS, A., COCKETT, M. I., WILLIAMSON, R. A., OSHEA, M. und DOCHERTY, A. J. P. (1991) The N-Terminal Domain of Tissue Inhibitor of Metalloproteinases Retains Metalloproteinase Inhibitory Activity. *Biochemistry* 30, S. 8097-8101
- 111) MURPHY, G., NGUYEN, Q., COCKETT, M. I., ATKINSON, S. J., ALLAN, J. A., KNIGHT, C. G., WILLENBROCK, F. und DOCHERTY, A. J. P. (1994) Assessment of the Role of the Fibronectin-Like Domain of Gelatinase-a by Analysis of a Deletion Mutant. *Journal of Biological Chemistry* 269, S. 6632-6636

- 112) MURPHY, G., WILLENBROCK, F., WARD, R. V., COCKETT, M. I., EATON, D. und DOCHERTY, A. J. P. (1992b) The C-Terminal Domain of 72-Kda Gelatinase-a Is Not Required for Catalysis, but Is Essential for Membrane Activation and Modulates Interactions with Tissue Inhibitors of Metalloproteinases. *Biochemical Journal* 283, S. 637-641
- 113) NAGASE, H. und WOESSNER, J. F. (1999) Matrix metalloproteinases. *Journal of Biological Chemistry* 274, S. 21491-21494
- 114) NARES, S. (2003) The genetic relationship to periodontal disease. *Periodontology* 2000 32, S. 36-49
- 115) NIEMIEC, B. A. (2008) Periodontal disease. *Topics in Companion Animal Medicine* 23, S. 72-80
- 116) OFFENBACHER, S. (1996) Periodontal diseases: pathogenesis. *Annals of periodontology / The American Academy of Periodontology* 1, S. 821-878
- 117) OH, J., TAKAHASHI, R., KONDO, S., MIZOGUCHI, A., ADACHI, E., SASAHARA, R. M., NISHIMURA, S., IMAMURA, Y., KITAYAMA, H., ALEXANDER, D. B., IDE, C., HORAN, T. P., ARAKAWA, T., YOSHIDA, H., NISHIKAWA, S. I., ITOH, Y., SEIKI, M., ITOHARA, S., TAKAHASHI, C. und NODA, M. (2001) The membrane-anchored MMP inhibitor RECK is a key regulator of extracellular matrix integrity and angiogenesis. *Cell* 107, S. 789-800
- 118) OVERALL, C. M. (2002) Molecular determinants of metalloproteinase substrate specificity - Matrix metalloproteinase substrate binding domains, modules, and exosites. *Molecular Biotechnology* 22, S. 51-86
- 119) OVERALL, C. M. und LÓPEZ-OTÍN, C. (2002) Strategies for MMP inhibition in cancer: Innovations for the post-trial era. *Nature Reviews Cancer* 2, S. 657-672
- 120) OVERALL, C. M., WRANA, J. L. und SODEK, J. (1989) Independent Regulation of Collagenase, 72-Kda Progelatinase, and Metalloendoproteinase Inhibitor Expression in Human-Fibroblasts by Transforming Growth Factor-Beta. *Journal of Biological Chemistry* 264, S. 1860-1869
- 121) OYARZÚN, A., ARANCIBIA, R., HIDALGO, R., PEÑAFIEL, C., CÁCERES, M., GONZÁLEZ, M. J., MARTÍNEZ, J. und SMITH, P. C. (2010) Involvement of MT1-MMP and TIMP-2 in human periodontal disease. *Oral Diseases* 16, S. 388-395
- 122) OZ, H. S. und PULEO, D. A. (2011) Animal Models for Periodontal Disease. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, S. 1-8
- 123) PALTIAN, V. (2006) Immunhistologische Untersuchungen zur Expression von CD44, Matrix-Metalloproteinasen und ihren Inhibitoren in Mammatumoren von Hunden. Institut für Pathologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Hannover, Tierärztliche Hochschule Hannover (Dissertation)

- 124) PAUL, S. S. (2005) Vergleichende Untersuchungen über die Expression von Matrix-Metalloproteinasen und ihren Inhibitoren in senilen Plaques im zentralen Nervensystem alter Hunde und Menschen. Institut für Pathologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Hannover, Tierärztliche Hochschule Hannover (Dissertation)
- 125) PAULA-SILVA, F. W. G., DA SILVA, L. A. B. und KAPILA, Y. L. (2010) Matrix Metalloproteinase Expression in Teeth with Apical Periodontitis Is Differentially Modulated by the Modality of Root Canal Treatment. *Journal of Endodontics* 36, S. 231-237
- 126) PAVLICA, Z., PETELIN, M., JUNTES, P., ERZEN, D., CROSSLEY, D. A. und SKALERIC, U. (2008) Periodontal disease burden and pathological changes in organs of dogs. *Journal of Veterinary Dentistry* 25, S. 97-105
- 127) PEDDLE, G. D., DROBATZ, K. J., HARVEY, C. E., ADAMS, A. und SLEEPER, M. M. (2009) Association of periodontal disease, oral procedures, and other clinical findings with bacterial endocarditis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 234, S. 100-107
- 128) PEI, D. Q. und WEISS, S. J. (1995) Furin-Dependent Intracellular Activation of the Human Stromelysin-3 Zymogen. *Nature* 375, S. 244-247
- 129) PETERS, J. L., DEMARS, P. L., COLLINS, L. M., STONER, J. A., MATSUMOTO, H., KOMORI, N., SINGH, A., FEASLEY, C. L., HADDOCK, J. A. und LEVINE, M. S. (2012) Effects of immunization with natural and recombinant lysine decarboxylase on canine gingivitis development. *Vaccine* 30, 6706-6712
- 130) PILCHER, B. K., DUMIN, J. A., SUDBECK, B. D., KRANE, S. M., WELGUS, H. G. und PARKS, W. C. (1997) The activity of collagenase-1 is required for keratinocyte migration on a type I collagen matrix. *Journal of Cell Biology* 137, S. 1445-1457
- 131) PUFF, C., KRUDEWIG, C., IMBSCHWEILER, I., BAUMGAERTNER, W. und ALLDINGER, S. (2009) Influence of persistent canine distemper virus infection on expression of RECK, matrix-metalloproteinases and their inhibitors in a canine macrophage/monocytic tumour cell line (DH82). *Veterinary Journal* 182, S. 100-107
- 132) RAI, B., KHARB, S., JAIN, R. und ANAND, S. C. (2008) Biomarkers of periodontitis in oral fluids. *Journal of oral science* 50, S. 53-56
- 133) RATHNAYAKE, N., AKERMAN, S., KLINGE, B., LUNDEGREN, N., JANSSON, H., TRYSELIUS, Y., SORSA, T. und GUSTAFSSON, A. (2013) Salivary biomarkers of oral health: a cross-sectional study. *Journal of Clinical Periodontology* 40, S. 140-147
- 134) RAWLINGS, N. D., BARRET, A. J. und BATEMAN, A. (2010) MEROPS: the peptidase database. *Nucleic Acids Res* 38, D227-D233 und <http://merops.sanger.ac.uk/>
- 135) RAWLINSON, J. E., GOLDSTEIN, R. E., REITER, A. M., ATTWATER, D. Z. und HARVEY, C. E. (2011) Association of periodontal disease with systemic health indices in dogs and the systemic response to treatment of periodontal disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 238, S. 601-609

- 136) ROBERTSON, P. B., LANTZ, M., MARUCHA, P. T., KORNMAN, K. S., TRUMMEL, C. L. und HOLT, S. C. (1982) Collagenolytic Activity Associated with *Bacteroides* Species and *Actinobacillus Actinomycetemcomitans*. *Journal of Periodontal Research* 17, S. 275-283
- 137) RODRIGUEZ-MANZANEQUE, J. C., LANE, T. F., ORTEGA, M. A., HYNES, R. O., LAWLER, J. und IRUELA-ARISPE, M. L. (2001) Thrombospondin-1 suppresses spontaneous tumor growth and inhibits activation of matrix metalloproteinase-9 and mobilization of vascular endothelial growth factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98, S. 12485-12490
- 138) RODRÍGUEZ, D., MORRISON, C. J. und OVERALL, C. M. (2010) Matrix metalloproteinases: What do they not do? New substrates and biological roles identified by murine models and proteomics. *Biochimica Et Biophysica Acta - Molecular Cell Research* 1803, S. 39-54
- 139) SALOMON, F.-V. (2008) Verdauungsapparat, Apparatus digestorius. In *Anatomie für die Tiermedizin*. 2. Auflage. Hrsg. SALOMON, F.-V., GEYER, H. und GILLE, U. Stuttgart, Enke Verlag
- 140) SANDHYA, Y. P., PRABHUJI, M. L. V. und CHANDRA, R. V. (2011) Comparative Evaluation of the Efficacy of 10% Doxycycline Hyclate in the Periodontal Treatment of Smokers - A Clinical and Microbiological Study. *Oral Health & Preventive Dentistry* 9, S. 59-65
- 141) SBARDELLA, D., FASCIGLIONE, G. F., GIOIA, M., CIACCIO, C., TUNDO, G. R., MARINI, S. und COLETTA, M. (2012) Human matrix metalloproteinases: An ubiquitous class of enzymes involved in several pathological processes. *Molecular Aspects of Medicine* 33, S. 119-208
- 142) SCHROEDER, H. E. und LINDHE, J. (1975) Conversion of Stable Established Gingivitis in Dog into Destructive Periodontitis. *Archives of Oral Biology* 20, S. 775-782
- 143) SCHWARZ, F., JEPSEN, S., HERTEN, M., AOKI, A., SCULEAN, A. und BECKER, J. (2007) Immunohistochemical characterization of periodontal wound healing following nonsurgical treatment with fluorescence controlled Er : YAG laser radiation in dogs. *Lasers in Surgery and Medicine* 39, S. 428-440
- 144) SEINOST, G., WIMMER, G., SKERGET, M., THALLER, E., BRODMANN, M., GASSER, R., BRATSKHO, R. O. und PILGER, E. (2005) Periodontal treatment improves endothelial dysfunction in patients with severe periodontitis. *American Heart Journal* 149, S. 1050-1054
- 145) SENHORINHO, G. N. A., NAKANO, V., LIU, C., SONG, Y., FINEGOLD, S. M. und AVILA-CAMPOS, M. J. (2012) Occurrence and antimicrobial susceptibility of *Porphyromonas* spp. and *Fusobacterium* spp. in dogs with and without periodontitis. *Anaerobe* 18, S. 381-385
- 146) SHI, Z.-G., LI, J.-P., SHI, L.-L. und LI, X. (2012) An Updated Patent Therapeutic Agents Targeting MMPs. *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery* 7, S. 74-101

- 147) SHIPLEY, J. M., DOYLE, G. A. R., FLISZAR, C. J., YE, Q. Z., JOHNSON, L. L., SHAPIRO, S. D., WELGUS, H. G. und SENIOR, R. M. (1996) The structural basis for the elastolytic activity of the 92-kDa and 72-kDa gelatinases. *Journal of Biological Chemistry* 271, S. 4335-4341
- 148) SHUMANN MOSS, L. A., JENSEN-TAUBMAN, S. und STETLER-STEVENSON, W. G. (2012) Matrix Metalloproteinases Changing Roles in Tumor Progression and Metastasis. *American Journal of Pathology* 181, S. 1895-1899
- 149) SIEFERT, S. A. und SARKAR, R. (2012) Matrix metalloproteinases in vascular physiology and disease. *Vascular* 20, S. 210-216
- 150) SÖDER, P. O., MEURMAN, J. H., JOGESTRAND, T., NOWAK, J. und SODER, B. (2009) Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in blood as markers for early atherosclerosis in subjects with chronic periodontitis. *Journal of Periodontal Research* 44, S. 452-458
- 151) SOELL, M., ELKAIM, R. und TENENBAUM, H. (2002) Cathepsin C, matrix metalloproteinases, and their tissue inhibitors in gingiva and gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. *Journal of Dental Research* 81, S. 174-178
- 152) SOMERVILLE, R. P. T., OBLANDER, S. A. und APTE, S. S. (2003) Matrix metalloproteinases: old dogs with new tricks. *Genome Biology* 4, S. 216.1-216.11
- 153) SOTTRUP-JENSEN, L. und BIRKEDAL-HANSEN, H. (1989) Human Fibroblast Collagenase-Alpha-Macroglobulin Interactions - Localization of Cleavage Sites in the Bait Regions of 5 Mammalian Alpha-Macroglobulins. *Journal of Biological Chemistry* 264, S. 393-401
- 154) STAUDACHER, G. (2011) Strategies for treating canine periodontal disease. *Tierärztliche Praxis Ausgabe Kleintiere Heimtiere* 39, S. 121-132
- 155) STEINIGER, B., SCHWARZBACH, H. und STACHNISS, V. (2010) *Mikroskopische Anatomie der Zähne und des Parodonts*. Stuttgart, Georg Thieme Verlag
- 156) STERNLICHT, M. D. und BERGERS, G. (2000) Matrix metalloproteinases as emerging targets in anticancer therapy: status and prospects. *Emerging Therapeutic Targets* 4, S. 609-633
- 157) STERNLICHT, M. D. und WERB, Z. (2001) How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 17, S. 463-516
- 158) STETLER-STEVENSON, W. G., BERSCH, N. und GOLDE, D. W. (1992) Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-2 (Timp-2) Has Erythroid-Potentiating Activity. *Febs Letters* 296, S. 231-234
- 159) STÖCKER, W., GRAMS, F., BAUMANN, U., REINEMER, P., GOMISRUTH, F. X., MCKAY, D. B. und BODE, W. (1995) The Metzincins - Topological and Sequential Relations between the Astacins, Adamalysins, Serralysins, and Matrixins (Collagenases) Define a Superfamily of Zinc-Peptidases. *Protein Science* 4, S. 823-840

- 160) STRONGIN, A. Y., COLLIER, I., BANNIKOV, G., MARMER, B. L., GRANT, G. A. und GOLDBERG, G. I. (1995) Mechanism of Cell-Surface Activation of 72-Kda Type-Iv Collagenase - Isolation of the Activated Form of the Membrane Metalloprotease. *Journal of Biological Chemistry* 270, S. 5331-5338
- 161) STURGEON, A., STULL, J. W., COSTA, M. C. und WEESE, J. S. (2013) Metagenomic analysis of the canine oral cavity as revealed by high-throughput pyrosequencing of the 16S rRNA gene. *Veterinary Microbiology* 162, S. 891-898
- 162) SVANBERG, G. K., SYED, S. A. und SCOTT, B. W. (1982) Differences between Gingivitis and Periodontitis Associated Microbial-Flora in the Beagle Dog - Relationship of Plaque Parameters to Histological Parameters of Periodontal-Disease. *Journal of Periodontal Research* 17, S. 1-11
- 163) TAKAHASHI, C., SHENG, Z. Q., HORAN, T. P., KITAYAMA, H., MAKI, M., HITOMI, K., KITAURA, Y., TAKAI, S., SASAHARA, R. M., HORIMOTO, A., IKAWA, Y., RATZKIN, B. J., ARAKAWA, T. und NODA, M. (1998) Regulation of matrix metalloproteinase-9 and inhibition of tumor invasion by the membrane-anchored glycoprotein RECK. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95, S. 13221-13226
- 164) TALLANT, C., MARRERO, A. und XAVIER GOMIS-RÜTH, F. (2010) Matrix metalloproteinases: Fold and function of their catalytic domains. *Biochimica Et Biophysica Acta - Molecular Cell Research* 1803, S. 20-28
- 165) TARABOLETTI, G., MORBIDELLI, L., DONNINI, S., PARENTI, A., GRANGER, H. J., GIAVAZZI, R. und ZICHE, M. (2000) The heparin binding 25 kDa fragment of thrombospondin-1 promotes angiogenesis and modulates gelatinase and TIMP-2 production in endothelial cells. *Faseb Journal* 14, S. 1674-1676
- 166) TERVAHARTIALA, T., PIRILÄ, E., CEPONIS, A., MAISI, P., SALO, T., TUTER, G., KALLIO, P., TÖRNWALL, J., SRINIVAS, R., KONTTINEN, Y. T. und SORSA, T. (2000) The in vivo expression of the collagenolytic matrix metalloproteinases (MMP-2, -8, -13, and -14) and matrilysin (MMP-7) in adult and localized juvenile periodontitis. *Journal of Dental Research* 79, S. 1969-1977
- 167) THODEN VAN VELZEN, S. K., ABRAHAM-INPIJN, L. und MOORER, W. R. (1984) Plaque and systemic disease: a reappraisal of the focal infection concept. *Journal of Clinical Periodontology* 11, S. 209-220
- 168) THOMÉ, H. (2004) Mundhöhle und Schlundkopf. In *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Eingeweide*. 9. Auflage. Hrsg. NICKEL, R., SCHUMMER, A. und SEIFERLE, E. Stuttgart, Parey Verlag
- 169) TOMASI, C. und WENNSTRÖM, J. L. (2004) Locally delivered doxycycline improves the healing following non-surgical periodontal therapy in smokers. *Journal of Clinical Periodontology* 31, S. 589-595
- 170) TONETTI, M. S. (2009) Periodontitis and risk for atherosclerosis: an update on intervention trials. *Journal of Clinical Periodontology* 36, S. 15-19

- 171) TONETTI, M. S., D'AIUTO, F., NIBALI, L., DONALD, A., STORRY, C., PARKAR, M., SUVAN, J., HINGORANI, A. D., VALLANCE, P. und DEANFIELD, J. (2007) Treatment of periodontitis and endothelial function. *New England Journal of Medicine* 356, S. 911-920
- 172) VAN DYKE, T. E. und DAVE, S. (2005) Risk Factors for Periodontitis. *Journal of the International Academy of Periodontology* 7, S. 1-8
- 173) VAN WART, H. E. und BIRKEDAL-HANSEN, H. (1990) The Cysteine Switch - a Principle of Regulation of Metalloproteinase Activity with Potential Applicability to the Entire Matrix Metalloproteinase Gene Family. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87, S. 5578-5582
- 174) VAN WINKELHOFF, A. J. und SLOTS, J. (1999) *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in nonoral infections. *Periodontology* 2000 20, S. 122-135
- 175) VARGHESE, S., RAMSBY, M. L., JEFFREY, J. J. und CANALIS, E. (1995) Basic Fibroblast Growth-Factor Stimulates Expression of Interstitial Collagenase and Inhibitors of Metalloproteinases in Rat Bone-Cells. *Endocrinology* 136, S. 2156-2162
- 176) VELASCO, G., PENDAS, A. M., FUEYO, A., KNAUPER, V., MURPHY, G. und LOPEZ-OTIN, C. (1999) Cloning and characterization of human MMP-23, a new matrix metalloproteinase predominantly expressed in reproductive tissues and lacking conserved domains in other family members. *Journal of Biological Chemistry* 274, S. 4570-4576
- 177) VISSE, R. und NAGASE, H. (2003) Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases - Structure, function, and biochemistry. *Circulation Research* 92, S. 827-839
- 178) WADA, K., SATO, H., KINOH, H., KAJITA, M., YAMAMOTO, H. und SEIKI, M. (1998) Cloning of three *Caenorhabditis elegans* genes potentially encoding novel matrix metalloproteinases. *Gene* 211, S. 57-62
- 179) WAERHAUG, J. (1956) Effect of rough surfaces upon gingival tissue. *Journal of Dental Research* 35, S. 323-325
- 180) WELLMAN, M. L., KRAKOWKA, S., JACOBS, R. M. und KOCIBA, G. J. (1988) A Macrophage-Monocyte Cell-Line from a Dog with Malignant Histiocytosis. *In Vitro Cellular & Developmental Biology* 24, S. 223-229
- 181) WHITELOCK, J. M., MURDOCH, A. D., IOZZO, R. V. und UNDERWOOD, P. A. (1996) The degradation of human endothelial cell-derived perlecan and release of bound basic fibroblast growth factor by stromelysin, collagenase, plasmin, and heparanases. *Journal of Biological Chemistry* 271, S. 10079-10086
- 182) WHYTE, A., OBÓN, J., LEUZA, A., WHYTE, J. und MONTEAGUDO, L. V. (2013) Canine Severe Maxilla and Mandible Osteolysis Associated with Periodontal Disease Unperceived by Proprietors. *Pakistan Veterinary Journal* 33, S. 262-264

- 183) WILL, H., ATKINSON, S. J., BUTLER, G. S., SMITH, B. und MURPHY, G. (1996) The soluble catalytic domain of membrane type 1 matrix metalloproteinase cleaves the propeptide of procollagenase A and initiates autoproteolytic activation - Regulation by TIMP-2 and TIMP-3. *Journal of Biological Chemistry* 271, S. 17119-17123
- 184) WILLIAMSON, R. A., MARSTON, F. A. O., ANGAL, S., KOKLITIS, P., PANICO, M., MORRIS, H. R., CARNE, A. F., SMITH, B. J., HARRIS, T. J. R. und FREEDMAN, R. B. (1990) Disulfide Bond Assignment in Human Tissue Inhibitor of Metalloproteinases (Timp). *Biochemical Journal* 268, S. 267-274
- 185) WOESSNER, J. F. (1994) The Family of Matrix Metalloproteinases. *Annals of the New York Academy of Science* 732, S. 11-21
- 186) WOESSNER, J. F. (2002) MMPs and TIMPs - An historical perspective. *Molecular Biotechnology* 22, S. 33-49
- 187) WOLF, H. F., RATEITSCHAK, E. M., RATEITSCHAK, K. H. und HASSELL, T. M. (2005) *Color Atlas of Dental Medicine 1: Periodontology*. Stuttgart, Georg Thieme Verlag
- 188) YANG, Z. T., STRICKLAND, D. K. und BORNSTEIN, P. (2001) Extracellular matrix metalloproteinase 2 levels are regulated by the low density lipoprotein-related scavenger receptor and thrombospondin 2. *Journal of Biological Chemistry* 276, S. 8403-8408
- 189) YOSHIE, H., KOBAYASHI, T., TAI, H. und GALICIA, J. C. (2007) The role of genetic polymorphisms in periodontitis. *Periodontology* 2000 43, S. 102-132
- 190) YU, W. H., YU, S. S. C., MENG, Q., BREW, K. und WOESSNER, J. F. (2000) TIMP-3 binds to sulfated glycosaminoglycans of the extracellular matrix. *Journal of Biological Chemistry* 275, S. 31226-31232
- 191) ZAPPA, U. (1995) Histology of the Periodontal Lesion - Implications for Diagnosis. *Periodontology* 2000 7, S. 22-38
- 192) ZETNER, K. und ROTHMÜLLER, G. (2002) Behandlung von Zahnfleischtaschen mit dem neuen Periozeutikum Doxirobe®. *Praktischer Tierarzt* 83, S. 214-252
- 193) ZHOU, J., ZHANG, J. und CHAO, J. (2012) Porphyromonas gingivalis promotes monocyte migration by activating MMP-9. *Journal of Periodontal Research* 47, S. 236-242

9 Anhang

9.1 Untersuchte Hunde

Tabelle 4: Übersicht über die untersuchten Hunde

| Nummer | Rasse | Alter (Jahre) | Geschlecht | Gewicht (kg) | Parodontal- erkrankung Grad | Gingivitis- index | Pathohistologische Diagnose | Unter- suchte Probe |
|--------|-----------------------|------------------|------------|-----------------|-----------------------------------|----------------------|---|---------------------------|
| H1 | Golden Retriever | 1 | m | 31,0 | 0 | 0 | Geringgradige, akute bis subakute, multifokale, eitrige Gingivitis | H1a |
| H2 | Labrador Retriever | 2 | w | 28,1 | 0 | 0 | Physiologische Gingiva | H2a |
| H3 | Border Collie | 8 | mk | 21,5 | 1 | 2 | Geringgradige, subakute, diffuse, eitrige Gingivitis | H3b |
| H4 | Rauhaardackel | 2 | w | 4,2 | 1 | 2 | Mittelgradige, subakute, diffuse, eitrige Gingivitis | H4b |
| H5 | Mischling | 5 | mk | 12,2 | 1 | 2 | Mittelgradige, subakute, diffuse, eitrige Gingivitis | H5b |
| H6 | Beagle | 5 | mk | 9,2 | 2 | 2 | Physiologische Gingiva | H6c |
| H7 | Mischling | 7 | m | 37,0 | 1 | 2 | Geringgradige, subakute, diffuse, eitrige Gingivitis | H7b |

| Fortsetzung Tabelle 4: | | | | | | | | |
|------------------------|------------------------|------------------|------------|-----------------|-----------------------------------|----------------------|---|---------------------------|
| Nummer | Rasse | Alter (Jahre) | Geschlecht | Gewicht (kg) | Parodontal- erkrankung Grad | Gingivitis- index | Pathohistologische Diagnose | Unter- suchte Probe |
| H8 | Siberian Husky | 5 | wk | 24,7 | 1 | 2 | Hochgradige, subakute, diffuse, fokal akzentuierte, eitrige Gingivitis | H8b |
| H9 | Dalmatiner | 8 | mk | 30,0 | 1 | 2 | Physiologische Gingiva | H9c |
| H10 | Hovawart | 1 | m | 38,5 | 0 | 0 | Physiologische Gingiva | H10a |
| H11 | Rhodesian Ridgeback | 5 | m | 36,5 | 0 | 0 | Geringgradige, chronische, multifokale, lymphohistiozytäre Gingivitis | H11a |
| H12 | Australian Shepherd | 4 | m | 31,4 | 0 | 0 | Geringgradige, chronische, multifokale, lymphohistiozytäre Gingivitis | H12c |
| H13 | Mischling | 9 | m | 10,0 | 0 | 0 | Geringgradige, subakute, diffuse, eitrige Gingivitis | H13a |
| H14 | Weimaraner | 12 | wk | 32,0 | 1 | 2 | Geringgradige, subakute, multifokale, eitrige Gingivitis | H14c |
| H15 | Mischling | 4 | wk | 7,8 | 3 | 1 | Physiologische Gingiva | H15b |

| Fortsetzung Tabelle 4: | | | | | | | | |
|------------------------|-----------------------|------------------|------------|-----------------|-----------------------------------|----------------------|--|---------------------------|
| Nummer | Rasse | Alter (Jahre) | Geschlecht | Gewicht (kg) | Parodontal- erkrankung Grad | Gingivitis- index | Pathohistologische Diagnose | Unter- suchte Probe |
| H16 | Airedale Terrier | 6 | wk | 19,0 | 2 | 2 | Geringgradige, subakute, multifokale, eitrige Gingivitis mit fokaler Pustelbildung | H16b |
| H17 | Mischling | 6 | mk | 11,2 | 0 | 2 | Physiologische Gingiva | H17a |
| H18 | Beagle | 5 | mk | 14,2 | 1 | 2 | Physiologische Gingiva | H18b |
| H19 | Beagle | 4 | wk | 13,2 | 4 | 2 | Hochgradige, chronische, multifokale, eitrige Gingivitis | H19b |
| H20 | Beagle | 5 | mk | 12,0 | 3 | 2 | Mittelgradige, subakute, diffuse, eitrige Gingivitis | H20b |
| H21 | Labrador Retriever | 4 | mk | 27,7 | 2 | 2 | Hochgradige, chronische, multifokale, eitrige Gingivitis | H21b |
| H22 | Pudel | 4 | m | 15,5 | 1 | 2 | Mittelgradige, subakute bis chronische, diffuse, eitrige Gingivitis | H22b |
| H23 | Beagle | 8 | wk | 11,0 | 1 | 1 | Geringgradige, subakute, multifokale, eitrige Gingivitis | H23b |

| Fortsetzung Tabelle 4: | | | | | | | | |
|------------------------|-----------------------|------------------|------------|-----------------|-----------------------------------|----------------------|---|---------------------------|
| Nummer | Rasse | Alter (Jahre) | Geschlecht | Gewicht (kg) | Parodontal- erkrankung Grad | Gingivitis- index | Pathohistologische Diagnose | Unter- suchte Probe |
| H24 | Beagle | 3 | mk | 13,0 | 1 | 2 | Geringgradige, akute, multifokale, eitrige Gingivitis | H24c |
| H25 | Mischling | 11 | mk | 33,0 | 2 | 1 | Mittelgradige, subakute, multifokale, eitrige Gingivitis | H25b |
| H26 | Yorkshire Terrier | 10 | m | 6,6 | 4 | 2 | Mittelgradige, subakute, multifokale, eitrige Gingivitis | H26b |
| H27 | Mischling | 3 | w | 20,0 | 1 | 1 | Hochgradige, subakute, diffuse, eitrige Gingivitis | H27b |
| H28 | Labrador Retriever | 8 | wk | 28,7 | 0 | 0 | Geringgradige, subakute, multifokale, eitrige Gingivitis | H28a |
| H29 | Mischling | 4 | mk | 9,4 | 2 | 1 | Geringgradige, subakute, multifokale, eitrige Gingivitis | H29b |

| Fortsetzung Tabelle 4: | | | | | | | | |
|------------------------|-----------------------|------------------|------------|-----------------|-----------------------------------|----------------------|---|---------------------------|
| Nummer | Rasse | Alter (Jahre) | Geschlecht | Gewicht (kg) | Parodontal- erkrankung Grad | Gingivitis- index | Pathohistologische Diagnose | Unter- suchte Probe |
| H30 | Mischling | 8 | wk | 11,3 | 2 | 2 | Mittelgradige, subakute, fokale, eitrige Gingivitis | H30b |
| H31 | Mischling | 8 | w | 13,9 | 3 | 2 | Geringgradige, akute, multifokale, eitrige Gingivitis | H31b |
| H32 | Mischling | 6 | wk | 26,5 | 0 | 2 | Geringgradige, subakute, multifokale, eitrige Gingivitis | H32a |
| H33 | Beagle | 2 | m | 8,1 | 4 | 2 | Hochgradige, chronische, fokale, eitrige Gingivitis | H33b |
| H34 | Mischling | 9 | mk | 9,4 | 3 | 2 | Hochgradige, subakute, diffuse, eitrige Gingivitis | H34b |
| H35 | Irischer Wolfshund | 1 | m | 53,0 | 0 | 0 | Geringgradige, akute, fokale, eitrige Gingivitis | H35a |

| Fortsetzung Tabelle 4: | | | | | | | | |
|------------------------|----------------------|------------------|------------|-----------------|-----------------------------------|----------------------|---|---------------------------|
| Nummer | Rasse | Alter (Jahre) | Geschlecht | Gewicht (kg) | Parodontal- erkrankung Grad | Gingivitis- index | Pathohistologische Diagnose | Unter- suchte Probe |
| H36 | Yorkshire Terrier | 7 | wk | 4,5 | 4 | 2 | Mittelgradige, subakute, diffuse, eitrige Gingivitis | H36b |
| H37 | Chihuahua | 5 | m | 2,7 | 2 | 0 | Geringgradige, subakute, diffuse, eitrige Gingivitis | H37a |
| H38 | Mischling | 3 | wk | 36,0 | 1 | 2 | Geringgradige, akute, multifokale, eitrige Gingivitis | H38b |
| H39 | Mischling | 3 | w | 4,6 | 4 | 1 | Mittelgradige, subakute, multifokale, eitrige Gingivitis | H39b |
| H40 | Mischling | 8 | wk | 14,5 | 1 | 2 | Physiologische Gingiva | H40b |
| H41 | Beagle | 4 | mk | 15,5 | 1 | 2 | Geringgradige, subakute, multifokale, eitrige Gingivitis | H41c |
| H42 | Mischling | 4 | mk | 14,1 | 1 | 2 | Geringgradige, subakute, diffuse, eitrige Gingivitis | H42c |

| Fortsetzung Tabelle 4: | | | | | | | | |
|------------------------|-----------------------|------------------|------------|-----------------|-----------------------------------|----------------------|---|---------------------------|
| Nummer | Rasse | Alter (Jahre) | Geschlecht | Gewicht (kg) | Parodontal- erkrankung Grad | Gingivitis- index | Pathohistologische Diagnose | Unter- suchte Probe |
| H43 | Beagle | 4 | w | 9,3 | 3 | 2 | Hochgradige, chronische, diffuse, eitrige Gingivitis | H43b |
| H44 | Mischling | 4 | mk | 5,5 | 1 | 1 | Geringgradige, akute, multifokale, eitrige Gingivitis mit fokaler Pustelbildung | H44b |
| H45 | Mischling | 4 | wk | 17,0 | 4 | 1 | Hochgradige, chronische, fokale, eitrige Gingivitis | H45b |
| H46 | Beagle | 7 | mk | 18,6 | 2 | 2 | Physiologische Gingiva | H46b |
| H47 | Mischling | 11 | mk | 28,3 | 2 | 2 | Mittelgradige, subakute, multifokale, eitrige Gingivitis | H47b |
| H48 | Beagle | 4 | mk | 14,5 | 1 | 2 | Physiologische Gingiva | H48b |
| H49 | Labrador Retriever | 4 | wk | 22,9 | 0 | 0 | Physiologische Gingiva | H49a |
| H50 * | - | - | - | - | - | - | - | - |
| H51 | Chihuahua | 2 | m | 1,8 | 2 | 2 | Mittelgradige, subakute, fokale, eitrige Gingivitis | H51b |

| Fortsetzung Tabelle 4: | | | | | | | | |
|------------------------|---------------------------|------------------|------------|-----------------|-----------------------------------|----------------------|---|---------------------------|
| Nummer | Rasse | Alter (Jahre) | Geschlecht | Gewicht (kg) | Parodontal- erkrankung Grad | Gingivitis- index | Pathohistologische Diagnose | Unter- suchte Probe |
| H52 | Border Terrier | 3 | wk | 10,4 | 1 | 2 | Physiologische Gingiva | H52c |
| H53 | Mischling | 7 | mk | 43,0 | 2 | 2 | Mittelgradige, subakute, diffuse, eitrige Gingivitis | H53c |
| H54 | Chihuahua | 5 | w | 3,0 | 4 | 2 | Geringgradige, subakute, diffuse, eitrige Gingivitis | H54b |
| H55 | Mischling | 4 | m | 35,0 | 0 | 0 | Geringgradige, akute, multifokale, eitrige Gingivitis | H55a |
| H56 | American Cockerspaniel | 3 | w | 10,5 | 1 | 2 | Geringgradige, akute, multifokale, eitrige Gingivitis | H56b |
| H57 | Mischling | 12 | w | 10,7 | 4 | 2 | Hochgradige, chronische, diffuse, eitrige Gingivitis | H57b |
| H58 | Zwerg- schnauzer | 3 | w | 6,9 | 4 | 1 | Hochgradige, chronische, diffuse, fokal akzentuierte, eitrige Gingivitis | H58b |

Legende zu Tabelle 4:

a = klinisch unveränderte Gingiva

b = klinisch veränderte Gingiva

c = Übergangsbereich klinisch unverändert - klinisch verändert

w = weiblich

wk = weiblich-kastriert

m = männlich

mk = männlich-kastriert

* Aufgrund von Blutbildveränderungen unbekannter Ursache (Leukozytose, Neutrophilie, Linksverschiebung) aus der Auswertung genommen

9.2 Verwendete Antikörper

Tabelle 9: Übersicht über die verwendeten Primär- und Sekundärantikörper

| Primärantikörper | Klonalität und Spezifität des Primärantikörpers | Verdünnung des Primärantikörpers | Bezugsquelle des Primärantikörpers | Sekundärantikörper |
|---|--|---|---|---------------------------|
| MMP-2 (72kDa Collagenase IV) Ab-1 | Monoklonal Clone CA-4001 Maus-anti-Mensch | 1:300 | Thermo Fisher Scientific GmbH Dreieich, Deutschland | Ziege-anti-Maus |
| R-HMMP-3 | Polyklonal Kaninchen-anti-Mensch | 1:250 | Triple Point Biologics, Inc. Forest Grove, Oregon, USA | Ziege-anti-Kaninchen |
| SPA-MMP-8 | Polyklonal Kaninchen-anti-Mensch | 1:250 | Triple Point Biologics, Inc. Forest Grove, Oregon, USA | Ziege-anti-Kaninchen |
| RM105-MMP9 | Polyklonal Kaninchen-anti-Mensch | 1:500 | Triple Point Biologics, Inc. Forest Grove, Oregon, USA | Ziege-anti-Kaninchen |
| RP3-TIMP1 | Polyklonal Kaninchen-anti-Mensch | 1:500 | Triple Point Biologics, Inc. Forest Grove, Oregon, USA | Ziege-anti-Kaninchen |
| RP2-TIMP2 | Polyklonal Kaninchen-anti-Mensch | 1:500 | Triple Point Biologics, Inc. Forest Grove, Oregon, USA | Ziege-anti-Kaninchen |

Laut Angabe der jeweiligen Hersteller (siehe Tabelle 9) werden folgende pro-Formen bzw. aktive Formen der untersuchten MMPs nachgewiesen:

- MMP-2 (72kDa Collagenase IV) Ab-1 weist die pro-Form von MMP-2 nach (z.B. im Western-Blot, für die Immunhistologie nicht getestet).
- R-HMMP-3 und RM105-MMP9 weisen die pro-Formen und die aktiven Formen der jeweiligen MMPs nach.
- SPA-MMP-8 weist bei Western-Blot-Untersuchungen die pro-Form und die aktive Form von MMP-8 nach, im Rahmen von immunhistologischen Untersuchungen besteht möglicherweise ein Einfluss durch das verwendete immunhistologische Protokoll.

9.3 Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs an verschiedenen Lokalisationen und der klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen (Parodontalerkrankung Grad 0-4, ordinal skaliert)

Tabelle 11: In folgenden Fällen besteht ein statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit der klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen

| Antikörper gegen | Lokalisation | Richtung des statistischen Zusammenhangs, ermittelt anhand des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman r_s |
|------------------|---|--|
| MMP-3: | Subepitheliale Lamina propria gesamt | Positiv |
| | Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen | Positiv |
| MMP-8: | Subepitheliale Lamina propria gesamt | Positiv |
| | Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen | Positiv |
| | Mittlere Lamina propria gesamt | Positiv |
| MMP-9: | Subepitheliale Lamina propria gesamt | Positiv |
| | Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen | Positiv |
| | Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten | Positiv |
| | Mittlere Lamina propria gesamt | Positiv |
| | Mittlere Lamina propria Entzündungszellen | Positiv |
| TIMP-1: | Stratum basale | Negativ |
| | Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten | Negativ |
| | Endothel | Negativ |
| TIMP-2: | Epithel gesamt | Negativ |
| | Stratum basale | Negativ |
| | Endothel | Negativ |

Statistisch signifikante Zusammenhänge konnten in diesen Fällen nicht nachgewiesen werden, es besteht lediglich ein fraglich statistisch signifikanter Zusammenhang bei der Untersuchung auf MMP-8 an der Lokalisation „Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen“.

Tabelle 12: In folgenden Fällen besteht ein fraglich statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit der klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen

| Antikörper gegen | Lokalisation | Richtung des statistischen Zusammenhangs, ermittelt anhand des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman r_s |
|------------------|---|--|
| MMP-2: | Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen | Positiv |
| | Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten | Negativ |
| | Mittlere Lamina propria gesamt | Positiv |

Tabelle 13: In folgenden Fällen kann kein statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit der klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen festgestellt werden

| Antikörper gegen | Lokalisation |
|------------------|---|
| MMP-2: | Epithel gesamt Stratum basale Subepitheliale Lamina propria gesamt Mittlere Lamina propria Entzündungszellen Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Endothel Alveolarknochenbereich gesamt Alveolarknochenbereich Entzündungszellen Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich faserassoziiert Perivaskuläre Infiltrate |

| Fortsetzung Tabelle 13: | |
|-------------------------|--|
| Antikörper gegen | Lokalisation |
| MMP-3: | Epithel gesamt Stratum basale Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Mittlere Lamina propria gesamt Mittlere Lamina propria Entzündungszellen Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Endothel Alveolarknochenbereich gesamt Alveolarknochenbereich Entzündungszellen Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich faserassoziiert Perivaskuläre Infiltrate |
| MMP-8: | Epithel gesamt Stratum basale Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Mittlere Lamina propria Entzündungszellen Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Endothel Alveolarknochenbereich gesamt Alveolarknochenbereich Entzündungszellen Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich faserassoziiert Perivaskuläre Infiltrate |
| MMP-9: | Epithel gesamt Stratum basale Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Endothel Alveolarknochenbereich gesamt Alveolarknochenbereich Entzündungszellen Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich faserassoziiert Perivaskuläre Infiltrate |

Fortsetzung Tabelle 13:

| Antikörper gegen | Lokalisation |
|------------------|---|
| TIMP-1: | Epithel gesamt Subepitheliale Lamina propria gesamt Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Mittlere Lamina propria gesamt Mittlere Lamina propria Entzündungszellen Alveolarknochenbereich gesamt Alveolarknochenbereich Entzündungszellen Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich faserassoziiert Perivaskuläre Infiltrate |
| TIMP-2: | Subepitheliale Lamina propria gesamt Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Mittlere Lamina propria gesamt Mittlere Lamina propria Entzündungszellen Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich gesamt Alveolarknochenbereich Entzündungszellen Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich faserassoziiert Perivaskuläre Infiltrate |

9.4 Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs an verschiedenen Lokalisationen und dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad

Tabelle 14: In folgenden Fällen besteht ein statistisch auffälliger und signifikanter Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad

| Antikörper gegen | Lokalisation | Richtung des statistischen Zusammenhangs, ermittelt anhand des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman r_s |
|------------------|--|--|
| MMP-2: | Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen | Positiv |
| | Mittlere Lamina propria Entzündungszellen | Positiv |
| MMP-3: | Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen | Positiv |
| MMP-8: | Subepitheliale Lamina propria gesamt | Positiv |
| | Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen | Positiv |
| MMP-9: | Subepitheliale Lamina propria gesamt | Positiv |
| | Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen | Positiv |
| | Mittlere Lamina propria gesamt | Positiv |
| | Mittlere Lamina propria Entzündungszellen | Positiv |

Tabelle 15: In folgenden Fällen besteht ein statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad

| Antikörper gegen | Lokalisation | Richtung des statistischen Zusammenhangs, ermittelt anhand des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman r_s |
|------------------|--|--|
| MMP-2: | Subepitheliale Lamina propria gesamt | Positiv |
| | Mittlere Lamina propria gesamt | Positiv |
| | Perivaskuläre Infiltrate | Positiv |
| MMP-3: | Epithel gesamt | Positiv |
| | Stratum basale | Positiv |
| | Subepitheliale Lamina propria gesamt | Positiv |
| | Mittlere Lamina propria Entzündungszellen | Positiv |
| MMP-8: | Mittlere Lamina propria gesamt | Positiv |
| | Mittlere Lamina propria Entzündungszellen | Positiv |
| | Perivaskuläre Infiltrate | Positiv |
| MMP-9: | Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten | Positiv |
| | Alveolarknochenbereich Entzündungszellen | Positiv |
| | Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten | Positiv |
| TIMP-1: | Stratum basale | Negativ |
| TIMP-2: | Mittlere Lamina propria gesamt | Positiv |

Es besteht zudem ein fraglich statistisch signifikanter Zusammenhang bei der Untersuchung auf MMP-8 an der Lokalisation „Mittlere Lamina propria gesamt“.

Tabelle 16: In folgendem Fall besteht ein knapp nicht statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad

| Antikörper gegen | Lokalisation | Richtung des statistischen Zusammenhangs, ermittelt anhand des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman r_s |
|------------------|---|--|
| MMP-8: | Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten | Positiv |

Tabelle 17: In folgenden Fällen kann kein statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad festgestellt werden

| Antikörper gegen | Lokalisation |
|------------------|---|
| MMP-2: | Epithel gesamt Stratum basale Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Endothel Alveolarknochenbereich gesamt Alveolarknochenbereich Entzündungszellen Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich faserassoziiert |
| MMP-3: | Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Mittlere Lamina propria gesamt Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Endothel Alveolarknochenbereich gesamt Alveolarknochenbereich Entzündungszellen Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich faserassoziiert Perivaskuläre Infiltrate |
| MMP-8: | Epithel gesamt Stratum basale Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Endothel Alveolarknochenbereich gesamt Alveolarknochenbereich Entzündungszellen Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich faserassoziiert |

| Fortsetzung Tabelle 17: | |
|-------------------------|--|
| Antikörper gegen | Lokalisation |
| MMP-9: | Epithel gesamt Stratum basale Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Endothel Alveolarknochenbereich gesamt Alveolarknochenbereich faserassoziert Perivaskuläre Infiltrate |
| TIMP-1: | Epithel gesamt Subepitheliale Lamina propria gesamt Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Mittlere Lamina propria gesamt Mittlere Lamina propria Entzündungszellen Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Endothel Alveolarknochenbereich gesamt Alveolarknochenbereich Entzündungszellen Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich faserassoziert Perivaskuläre Infiltrate |
| TIMP-2: | Epithel gesamt Stratum basale Subepitheliale Lamina propria gesamt Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Mittlere Lamina propria Entzündungszellen Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Endothel Alveolarknochenbereich gesamt Alveolarknochenbereich Entzündungszellen Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich faserassoziert Perivaskuläre Infiltrate |

9.5 Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs an verschiedenen Lokalisationen und dem klinisch ermittelten Gingivitisindex

Tabelle 18: In folgendem Fall besteht ein statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit dem klinisch ermittelten Gingivitisindex

| Antikörper gegen | Lokalisation | Richtung des statistischen Zusammenhangs, ermittelt anhand des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman r_s |
|------------------|----------------------------------|--|
| MMP-8: | Alveolarknochenbereich gesamt | Negativ |

Ein statistisch signifikanter Zusammenhang besteht jedoch nicht.

Tabelle 19: In folgendem Fall besteht ein knapp nicht statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit dem klinisch ermittelten Gingivitisindex

| Antikörper gegen | Lokalisation | Richtung des statistischen Zusammenhangs, ermittelt anhand des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman r_s |
|------------------|---|--|
| MMP-3: | Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten | Negativ |

Tabelle 20: In folgenden Fällen besteht ein fraglich statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit dem klinisch ermittelten Gingivitisindex

| Antikörper gegen | Lokalisation | Richtung des statistischen Zusammenhangs, ermittelt anhand des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman r_s |
|------------------|---|--|
| MMP-2: | Alveolarknochenbereich gesamt | Negativ |
| | Alveolarknochenbereich faserassoziiert | Negativ |

Tabelle 21: In folgenden Fällen kann kein statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit dem klinisch ermittelten Gingivitisindex festgestellt werden

| Antikörper gegen | Lokalisation |
|------------------|--|
| MMP-2: | Epithel gesamt Stratum basale Subepitheliale Lamina propria gesamt Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Mittlere Lamina propria gesamt Mittlere Lamina propria Entzündungszellen Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Endothel Alveolarknochenbereich Entzündungszellen Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Perivaskuläre Infiltrate |
| MMP-3: | Epithel gesamt Stratum basale Subepitheliale Lamina propria gesamt Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Mittlere Lamina propria gesamt Mittlere Lamina propria Entzündungszellen Endothel Alveolarknochenbereich gesamt Alveolarknochenbereich Entzündungszellen Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich faserassoziiert Perivaskuläre Infiltrate |
| MMP-8: | Epithel gesamt Stratum basale Subepitheliale Lamina propria gesamt Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Mittlere Lamina propria gesamt Mittlere Lamina propria Entzündungszellen Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Endothel Alveolarknochenbereich Entzündungszellen Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich faserassoziiert Perivaskuläre Infiltrate |

| Fortsetzung Tabelle 21: | |
|-------------------------|---|
| Antikörper gegen | Lokalisation |
| MMP-9: | Epithel gesamt Stratum basale Subepitheliale Lamina propria gesamt Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Mittlere Lamina propria gesamt Mittlere Lamina propria Entzündungszellen Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Endothel Alveolarknochenbereich gesamt Alveolarknochenbereich Entzündungszellen Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich faserassoziiert Perivaskuläre Infiltrate |
| TIMP-1: | Epithel gesamt Stratum basale Subepitheliale Lamina propria gesamt Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Mittlere Lamina propria gesamt Mittlere Lamina propria Entzündungszellen Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Endothel Alveolarknochenbereich gesamt Alveolarknochenbereich Entzündungszellen Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich faserassoziiert Perivaskuläre Infiltrate |

| Fortsetzung Tabelle 21: | |
|-------------------------|---|
| Antikörper gegen | Lokalisation |
| TIMP-2: | Epithel gesamt Stratum basale Subepitheliale Lamina propria gesamt Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Mittlere Lamina propria gesamt Mittlere Lamina propria Entzündungszellen Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Endothel Alveolarknochenbereich gesamt Alveolarknochenbereich Entzündungszellen Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich faserassoziiert Perivaskuläre Infiltrate |

9.6 Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs an verschiedenen Lokalisationen und zunehmender Veränderung im Kollagenfasergehalt

Tabelle 22: In folgenden Fällen besteht ein statistisch auffälliger und signifikanter Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt

| Antikörper gegen | Lokalisation | Richtung des statistischen Zusammenhangs, ermittelt anhand des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman r_s |
|------------------|--|--|
| MMP-2: | Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen | Positiv |
| MMP-8: | Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen | Positiv |
| MMP-9: | Subepitheliale Lamina propria gesamt | Positiv |
| | Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen | Positiv |
| | Mittlere Lamina propria gesamt | Positiv |

Tabelle 23: In folgenden Fällen besteht ein statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt

| Antikörper gegen | Lokalisation | Richtung des statistischen Zusammenhangs, ermittelt anhand des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman r_s |
|------------------|---|--|
| MMP-2: | Subepitheliale Lamina propria gesamt | Positiv |
| | Mittlere Lamina propria gesamt | Positiv |
| | Mittlere Lamina propria Entzündungszellen | Positiv |
| | Perivaskuläre Infiltrate | Positiv |
| MMP-3: | Epithel gesamt | Positiv |
| | Stratum basale | Positiv |
| | Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen | Positiv |
| MMP-8: | Subepitheliale Lamina propria gesamt | Positiv |
| MMP-9: | Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten | Positiv |
| TIMP-1: | Stratum basale | Negativ |

Es besteht zudem ein fraglich statistisch signifikanter Zusammenhang bei der Untersuchung auf MMP-3 an der Lokalisation „Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen“.

Tabelle 24: In folgenden Fällen besteht ein knapp nicht statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt

| Antikörper gegen | Lokalisation | Richtung des statistischen Zusammenhangs, ermittelt anhand des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman r_s |
|------------------|--------------------------------------|--|
| MMP-3: | Subepitheliale Lamina propria gesamt | Positiv |
| MMP-8: | Perivaskuläre Infiltrate | Positiv |

Tabelle 25: In folgendem Fall besteht ein fraglich statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt

| Antikörper gegen | Lokalisation | Richtung des statistischen Zusammenhangs, ermittelt anhand des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman r_s |
|------------------|-------------------|--|
| TIMP-1: | Epithel gesamt | Negativ |

Tabelle 26: In folgenden Fällen kann kein statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt festgestellt werden

| Antikörper gegen | Lokalisation |
|------------------|--|
| MMP-2: | Epithel gesamt Stratum basale Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Endothel Alveolarknochenbereich gesamt Alveolarknochenbereich Entzündungszellen Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich faserassoziiert |
| MMP-3: | Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Mittlere Lamina propria gesamt Mittlere Lamina propria Entzündungszellen Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Endothel Alveolarknochenbereich gesamt Alveolarknochenbereich Entzündungszellen Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich faserassoziiert Perivaskuläre Infiltrate |

| Fortsetzung Tabelle 26: | |
|-------------------------|--|
| Antikörper gegen | Lokalisation |
| MMP-8: | <p>Epithel gesamt</p> <p>Stratum basale</p> <p>Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten</p> <p>Mittlere Lamina propria gesamt</p> <p>Mittlere Lamina propria Entzündungszellen</p> <p>Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten</p> <p>Endothel</p> <p>Alveolarknochenbereich gesamt</p> <p>Alveolarknochenbereich Entzündungszellen</p> <p>Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten</p> <p>Alveolarknochenbereich faserassoziiert</p> |
| MMP-9: | <p>Epithel gesamt</p> <p>Stratum basale</p> <p>Mittlere Lamina propria Entzündungszellen</p> <p>Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten</p> <p>Endothel</p> <p>Alveolarknochenbereich gesamt</p> <p>Alveolarknochenbereich Entzündungszellen</p> <p>Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten</p> <p>Alveolarknochenbereich faserassoziiert</p> <p>Perivaskuläre Infiltrate</p> |
| TIMP-1: | <p>Subepitheliale Lamina propria gesamt</p> <p>Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen</p> <p>Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten</p> <p>Mittlere Lamina propria gesamt</p> <p>Mittlere Lamina propria Entzündungszellen</p> <p>Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten</p> <p>Endothel</p> <p>Alveolarknochenbereich gesamt</p> <p>Alveolarknochenbereich Entzündungszellen</p> <p>Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten</p> <p>Alveolarknochenbereich faserassoziiert</p> <p>Perivaskuläre Infiltrate</p> |

Fortsetzung Tabelle 26:

| Antikörper gegen | Lokalisation |
|------------------|---|
| TIMP-2: | Epithel gesamt Stratum basale Subepitheliale Lamina propria gesamt Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Mittlere Lamina propria gesamt Mittlere Lamina propria Entzündungszellen Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten Endothel Alveolarknochenbereich gesamt Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten Alveolarknochenbereich faserassoziiert Perivaskuläre Infiltrate |

Bei der Untersuchung der Lokalisation Alveolarknochenbereich Entzündungszellen für TIMP-2 finden sich nur 7 Beobachtungen, so dass das Ergebnis der Rangkorrelation nicht verwertbar ist.

9.7 Ergebnisse der statistischen Auswertung

Tabelle 27: Übersicht über die Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman r_s und die zugehörigen p-Werte für die immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs an verschiedenen Lokalisationen

| MMP / TIMP | Lokalisation | Für Score 1: Klinische Gruppe | Für Score 1: Klinische Gruppe p-Wert | Für Score 2: Klinische Gruppe | Für Score 2: Klinische Gruppe p-Wert | Für Score 1: Mikroskopischer Entzündungsgrad | Für Score 1: Mikroskopischer Entzündungsgrad p-Wert | Für Score 2: Mikroskopischer Entzündungsgrad | Für Score 2: Mikroskopischer Entzündungsgrad p-Wert | Für Score 1: Gingivitis-Index | Für Score 1: Gingivitis-Index p-Wert | Für Score 2: Gingivitis-Index | Für Score 2: Gingivitis-Index p-Wert | Für Score 1: Kollagen-fasergehalt | Für Score 1: Kollagen-fasergehalt p-Wert | Für Score 2: Kollagen-fasergehalt | Für Score 2: Kollagen-fasergehalt p-Wert |
|------------|--------------|-------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|--|---|--|---|-------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|--|-----------------------------------|--|
| | | f_s | | f_s | | f_s | | f_s | | f_s | | f_s | | f_s | | f_s | |
| TIMP-1 | EP | -0,205 | 0,13 | -0,212 | 0,11 | -0,235 | 0,079 | -0,257 | 0,054 | -0,223 | 0,096 | -0,248 | 0,063 | -0,265 | 0,046 | -0,206 | 0,12 |
| TIMP-2 | EP | 0,020 | 0,89 | -0,023 | 0,87 | -0,127 | 0,35 | -0,125 | 0,35 | -0,102 | 0,45 | -0,056 | 0,68 | -0,117 | 0,39 | -0,101 | 0,46 |
| TIMP-3 | EP | 0,246 | 0,065 | 0,241 | 0,071 | 0,304 | 0,021 | 0,366 | 0,0051 | 0,022 | 0,87 | 0,034 | 0,803 | 0,303 | 0,022 | 0,317 | 0,017 |
| TIMP-8 | EP | -0,088 | 0,51 | -0,045 | 0,74 | 0,026 | 0,85 | 0,097 | 0,47 | -0,127 | 0,35 | -0,133 | 0,32 | -0,163 | 0,23 | -0,138 | 0,307 |
| TIMP-9 | EP | -0,010 | 0,94 | 0,013 | 0,92 | -0,216 | 0,107 | -0,222 | 0,096 | -0,207 | 0,12 | -0,205 | 0,13 | -0,199 | 0,14 | -0,215 | 0,108 |
| TIMP-2 | EP | -0,370 | 0,0046 | -0,313 | 0,018 | -0,156 | 0,247 | -0,169 | 0,208 | -0,070 | 0,604 | -0,007 | 0,96 | -0,119 | 0,38 | -0,134 | 0,32 |
| TIMP-1 | STR | -0,275 | 0,038 | -0,330 | 0,012 | -0,294 | 0,027 | -0,355 | 0,0067 | -0,180 | 0,18 | -0,195 | 0,15 | -0,361 | 0,0058 | -0,360 | 0,0059 |
| TIMP-2 | STR | -0,135 | 0,32 | -0,228 | 0,089 | -0,198 | 0,14 | -0,214 | 0,11 | -0,167 | 0,22 | -0,132 | 0,33 | -0,174 | 0,195 | -0,160 | 0,23 |
| TIMP-3 | STR | 0,200 | 0,14 | 0,206 | 0,13 | 0,327 | 0,013 | 0,370 | 0,0046 | 0,007 | 0,96 | 0,024 | 0,86 | 0,319 | 0,016 | 0,317 | 0,016 |
| TIMP-8 | STR | -0,074 | 0,59 | -0,058 | 0,67 | 0,044 | 0,75 | 0,090 | 0,504 | -0,143 | 0,29 | -0,140 | 0,297 | -0,157 | 0,24 | -0,161 | 0,23 |
| TIMP-9 | STR | -0,037 | 0,79 | -0,030 | 0,83 | -0,191 | 0,16 | -0,205 | 0,13 | -0,171 | 0,204 | -0,145 | 0,28 | -0,161 | 0,23 | -0,167 | 0,21 |
| TIMP-2 | STR | -0,338 | 0,0101 | -0,287 | 0,0303 | -0,155 | 0,25 | -0,178 | 0,19 | -0,114 | 0,397 | -0,068 | 0,62 | -0,116 | 0,39 | -0,143 | 0,29 |
| TIMP-1 | SLPG | 0,094 | 0,49 | 0,118 | 0,39 | 0,101 | 0,46 | 0,081 | 0,55 | 0,013 | 0,92 | 0,016 | 0,91 | 0,086 | 0,53 | 0,092 | 0,499 |
| TIMP-2 | SLPG | 0,079 | 0,56 | 0,052 | 0,702 | 0,348 | 0,0080 | 0,380 | 0,0036 | 0,038 | 0,78 | 0,080 | 0,56 | 0,352 | 0,0072 | 0,381 | 0,0034 |
| TIMP-3 | SLPG | 0,369 | 0,0047 | 0,342 | 0,0093 | 0,433 | 0,0008 | 0,416 | 0,0013 | -0,022 | 0,87 | 0,035 | 0,796 | 0,282 | 0,034 | 0,254 | 0,057 |
| TIMP-8 | SLPG | 0,355 | 0,0067 | 0,402 | 0,0019 | 0,453 | 0,0004 | 0,496 | 0,0001 | 0,149 | 0,27 | 0,140 | 0,3002 | 0,375 | 0,0040 | 0,404 | 0,0018 |
| TIMP-9 | SLPG | 0,306 | 0,0207 | 0,310 | 0,019 | 0,512 | < 0,0001 | 0,527 | < 0,0001 | 0,097 | 0,47 | 0,124 | 0,36 | 0,592 | < 0,0001 | 0,623 | < 0,0001 |
| TIMP-2 | SLPG | -0,165 | 0,22 | -0,081 | 0,55 | -0,029 | 0,83 | -0,013 | 0,92 | -0,145 | 0,28 | -0,092 | 0,496 | 0,056 | 0,68 | 0,072 | 0,59 |
| TIMP-1 | SLPE | 0,101 | 0,46 | 0,124 | 0,37 | 0,089 | 0,52 | 0,093 | 0,5000 | 0,083 | 0,55 | 0,104 | 0,45 | 0,093 | 0,501 | 0,119 | 0,39 |
| TIMP-2 | SLPE | 0,272 | 0,0404 | 0,235 | 0,079 | 0,574 | < 0,0001 | 0,594 | < 0,0001 | 0,124 | 0,36 | 0,165 | 0,22 | 0,571 | < 0,0001 | 0,601 | < 0,0001 |

9 ANHANG

| Fortsetzung Tabelle 27: | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|---------|--------|-------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| MIMP-3 | SLPE | 0,389 | 0,0048 | 0,373 | 0,0071 | 0,580 | <0,0001 | 0,565 | <0,0001 | 0,047 | 0,75 | 0,062 | 0,66 | 0,478 | 0,0004 | 0,452 | 0,0009 |
| MIMP-8 | SLPE | 0,428 | 0,0011 | 0,459 | 0,0004 | 0,571 | <0,0001 | 0,606 | <0,0001 | 0,084 | 0,54 | 0,063 | 0,65 | 0,471 | 0,0003 | 0,496 | 0,0001 |
| MIMP-9 | SLPE | 0,329 | 0,017 | 0,314 | 0,023 | 0,522 | 0,0001 | 0,544 | <0,0001 | 0,042 | 0,77 | 0,083 | 0,56 | 0,459 | 0,0006 | 0,490 | 0,0002 |
| TIMP-2 | SLPE | -0,065 | 0,63 | -0,020 | 0,88 | 0,107 | 0,43 | 0,118 | 0,39 | -0,114 | 0,402 | -0,078 | 0,57 | 0,166 | 0,22 | 0,184 | 0,17 |
| TIMP-1 | SLPF | -0,050 | 0,71 | -0,062 | 0,65 | -0,175 | 0,198 | -0,241 | 0,074 | -0,117 | 0,39 | -0,123 | 0,37 | -0,135 | 0,32 | -0,154 | 0,26 |
| MIMP-2 | SLPF | -0,217 | 0,108 | -0,284 | 0,034 | -0,176 | 0,195 | -0,178 | 0,19 | -0,015 | 0,92 | 0,021 | 0,88 | 0,009 | 0,95 | 0,027 | 0,84 |
| MIMP-3 | SLPF | -0,067 | 0,62 | -0,078 | 0,57 | -0,091 | 0,503 | -0,086 | 0,53 | -0,155 | 0,25 | -0,098 | 0,47 | -0,051 | 0,707 | -0,077 | 0,57 |
| MIMP-8 | SLPF | 0,127 | 0,35 | 0,143 | 0,29 | 0,146 | 0,28 | 0,167 | 0,22 | 0,121 | 0,37 | 0,120 | 0,38 | 0,041 | 0,76 | 0,035 | 0,798 |
| MIMP-9 | SLPF | 0,293 | 0,027 | 0,306 | 0,0205 | 0,390 | 0,0027 | 0,391 | 0,0027 | -0,107 | 0,43 | -0,081 | 0,55 | 0,366 | 0,0051 | 0,390 | 0,0027 |
| TIMP-2 | SLPF | -0,232 | 0,085 | -0,177 | 0,19 | -0,196 | 0,15 | -0,209 | 0,12 | -0,213 | 0,12 | -0,179 | 0,19 | -0,092 | 0,502 | -0,094 | 0,49 |
| TIMP-1 | MLPG | 0,009 | 0,95 | -0,002 | 0,99 | 0,240 | 0,084 | 0,240 | 0,083 | -0,006 | 0,97 | -0,0003 | 0,998 | 0,159 | 0,26 | 0,171 | 0,22 |
| MIMP-2 | MLPG | 0,279 | 0,037 | 0,234 | 0,083 | 0,416 | 0,0014 | 0,411 | 0,0017 | 0,094 | 0,49 | 0,118 | 0,39 | 0,302 | 0,024 | 0,303 | 0,023 |
| MIMP-3 | MLPG | 0,044 | 0,75 | 0,032 | 0,82 | 0,256 | 0,062 | 0,225 | 0,103 | -0,171 | 0,22 | -0,147 | 0,29 | 0,213 | 0,12 | 0,167 | 0,23 |
| MIMP-8 | MLPG | 0,325 | 0,016 | 0,340 | 0,011 | 0,437 | 0,0009 | 0,484 | 0,0002 | -0,041 | 0,77 | -0,039 | 0,78 | 0,144 | 0,296 | 0,192 | 0,16 |
| MIMP-9 | MLPG | 0,340 | 0,013 | 0,359 | 0,0083 | 0,598 | <0,0001 | 0,616 | <0,0001 | 0,066 | 0,64 | 0,103 | 0,47 | 0,502 | 0,0001 | 0,511 | 0,0001 |
| TIMP-2 | MLPG | 0,061 | 0,66 | 0,136 | 0,32 | 0,284 | 0,034 | 0,314 | 0,018 | 0,001 | 0,996 | 0,021 | 0,88 | 0,102 | 0,46 | 0,098 | 0,47 |
| TIMP-1 | MLPE | 0,003 | 0,98 | -0,007 | 0,96 | 0,123 | 0,42 | 0,117 | 0,44 | 0,040 | 0,79 | 0,044 | 0,77 | -0,027 | 0,86 | -0,035 | 0,82 |
| MIMP-2 | MLPE | 0,215 | 0,16 | 0,215 | 0,16 | 0,609 | <0,0001 | 0,603 | <0,0001 | 0,222 | 0,14 | 0,230 | 0,13 | 0,354 | 0,017 | 0,342 | 0,022 |
| MIMP-3 | MLPE | 0,143 | 0,39 | 0,103 | 0,53 | 0,500 | 0,0012 | 0,485 | 0,0017 | 0,082 | 0,62 | 0,112 | 0,496 | 0,193 | 0,24 | 0,159 | 0,34 |
| MIMP-8 | MLPE | 0,267 | 0,073 | 0,269 | 0,0706 | 0,443 | 0,0021 | 0,482 | 0,0007 | 0,062 | 0,68 | 0,071 | 0,64 | 0,017 | 0,91 | 0,029 | 0,85 |
| MIMP-9 | MLPE | 0,355 | 0,025 | 0,350 | 0,027 | 0,589 | 0,0001 | 0,603 | <0,0001 | 0,124 | 0,45 | 0,142 | 0,38 | 0,293 | 0,066 | 0,293 | 0,066 |
| TIMP-2 | MLPE | 0,038 | 0,81 | 0,098 | 0,54 | 0,197 | 0,21 | 0,225 | 0,15 | 0,009 | 0,96 | 0,018 | 0,91 | -0,125 | 0,43 | -0,105 | 0,507 |
| TIMP-1 | MLPF | -0,274 | 0,048 | -0,275 | 0,046 | -0,116 | 0,41 | -0,178 | 0,202 | -0,160 | 0,25 | -0,165 | 0,24 | -0,050 | 0,72 | -0,054 | 0,702 |
| MIMP-2 | MLPF | 0,050 | 0,71 | -0,007 | 0,96 | 0,174 | 0,201 | 0,166 | 0,22 | -0,042 | 0,76 | -0,007 | 0,96 | 0,191 | 0,16 | 0,184 | 0,175 |
| MIMP-3 | MLPF | -0,147 | 0,29 | -0,161 | 0,25 | -0,019 | 0,89 | -0,042 | 0,77 | -0,286 | 0,038 | -0,264 | 0,056 | 0,023 | 0,87 | -0,002 | 0,99 |
| MIMP-8 | MLPF | 0,144 | 0,295 | 0,157 | 0,25 | 0,262 | 0,053 | 0,303 | 0,025 | -0,103 | 0,45 | -0,108 | 0,43 | 0,068 | 0,62 | 0,107 | 0,44 |
| MIMP-9 | MLPF | 0,070 | 0,62 | 0,095 | 0,497 | 0,236 | 0,089 | 0,254 | 0,066 | -0,031 | 0,82 | 0,030 | 0,83 | 0,179 | 0,2002 | 0,216 | 0,12 |
| TIMP-2 | MLPF | -0,203 | 0,13 | -0,150 | 0,27 | 0,030 | 0,83 | 0,030 | 0,83 | -0,098 | 0,47 | -0,096 | 0,48 | 0,039 | 0,77 | 0,029 | 0,84 |

9 ANHANG

| Fortsetzung Tabelle 27: | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|------|----------|--------|----------|--------|----------|--------|----------|--------|----------|--------|----------|--------|----------|--------|----------|--------|
| TIMP-1 | END | -0,281 | 0,038 | -0,340 | 0,011 | -0,140 | 0,31 | -0,183 | 0,18 | -0,214 | 0,12 | -0,223 | 0,102 | -0,134 | 0,33 | -0,126 | 0,36 |
| MIMP-2 | END | -0,165 | 0,22 | -0,244 | 0,068 | -0,107 | 0,43 | -0,115 | 0,39 | -0,015 | 0,91 | 0,016 | 0,904 | -0,008 | 0,95 | -0,001 | 0,99 |
| MIMP-3 | END | -0,110 | 0,42 | -0,194 | 0,15 | -0,139 | 0,302 | -0,154 | 0,25 | 0,075 | 0,58 | 0,078 | 0,57 | 0,091 | 0,5004 | 0,072 | 0,59 |
| MIMP-8 | END | -0,033 | 0,81 | 0,003 | 0,99 | -0,043 | 0,75 | -0,009 | 0,95 | -0,145 | 0,28 | -0,161 | 0,23 | -0,139 | 0,304 | -0,105 | 0,44 |
| MIMP-9 | END | -0,035 | 0,79 | -0,052 | 0,703 | -0,087 | 0,52 | -0,058 | 0,67 | -0,065 | 0,63 | -0,016 | 0,91 | -0,011 | 0,94 | 0,049 | 0,72 |
| TIMP-2 | END | -0,428 | 0,0009 | -0,380 | 0,0036 | -0,180 | 0,18 | -0,195 | 0,15 | -0,136 | 0,31 | -0,103 | 0,45 | -0,118 | 0,38 | -0,127 | 0,35 |
| TIMP-1 | ALVG | -0,244 | 0,29 | -0,084 | 0,72 | 0,032 | 0,89 | -0,042 | 0,86 | -0,105 | 0,65 | 0,092 | 0,69 | 0,040 | 0,86 | 0,206 | 0,37 |
| MIMP-2 | ALVG | -0,357 | 0,095 | -0,310 | 0,15 | -0,211 | 0,33 | -0,191 | 0,38 | -0,415 | 0,049 | -0,385 | 0,0699 | 0,009 | 0,97 | -0,063 | 0,78 |
| MIMP-3 | ALVG | 0,262 | 0,196 | 0,087 | 0,67 | 0,295 | 0,14 | 0,183 | 0,37 | 0,040 | 0,85 | 0,091 | 0,66 | 0,333 | 0,097 | 0,230 | 0,26 |
| MIMP-8 | ALVG | -0,102 | 0,64 | -0,080 | 0,72 | 0,105 | 0,63 | 0,121 | 0,58 | -0,414 | 0,0496 | -0,433 | 0,039 | -0,284 | 0,19 | -0,267 | 0,22 |
| MIMP-9 | ALVG | 0,221 | 0,26 | 0,301 | 0,12 | 0,140 | 0,48 | 0,148 | 0,45 | 0,157 | 0,43 | 0,256 | 0,19 | 0,187 | 0,34 | 0,217 | 0,27 |
| TIMP-2 | ALVG | -0,060 | 0,77 | 0,034 | 0,87 | -0,188 | 0,36 | -0,145 | 0,48 | -0,023 | 0,91 | 0,088 | 0,67 | -0,253 | 0,21 | -0,258 | 0,204 |
| TIMP-1 | ALVE | -0,084 | 0,796 | -0,128 | 0,69 | 0,522 | 0,082 | 0,497 | 0,1000 | -0,510 | 0,0904 | -0,550 | 0,064 | -0,183 | 0,57 | -0,183 | 0,57 |
| MIMP-2 | ALVE | 0,048 | 0,87 | -0,010 | 0,97 | 0,028 | 0,92 | -0,071 | 0,802 | -0,159 | 0,57 | -0,123 | 0,66 | -0,043 | 0,88 | -0,115 | 0,68 |
| MIMP-3 | ALVE | < 0,0001 | 1,0000 | < 0,0001 | 1,0000 | < 0,0001 | 1,0000 | < 0,0001 | 1,0000 | < 0,0001 | 1,0000 | < 0,0001 | 1,0000 | < 0,0001 | 1,0000 | < 0,0001 | 1,0000 |
| MIMP-8 | ALVE | 0,210 | 0,51 | 0,210 | 0,51 | 0,387 | 0,21 | 0,387 | 0,21 | -0,393 | 0,21 | -0,393 | 0,207 | 0,141 | 0,66 | 0,141 | 0,66 |
| MIMP-9 | ALVE | 0,445 | 0,064 | 0,452 | 0,0600 | 0,484 | 0,042 | 0,488 | 0,0401 | -0,136 | 0,59 | -0,154 | 0,54 | 0,386 | 0,11 | 0,386 | 0,11 |
| TIMP-2 | ALVE | < 0,0001 | 1,0000 | < 0,0001 | 1,0000 | < 0,0001 | 1,0000 | < 0,0001 | 1,0000 | < 0,0001 | 1,0000 | < 0,0001 | 1,0000 | < 0,0001 | 1,0000 | < 0,0001 | 1,0000 |
| TIMP-1 | ALVF | 0,110 | 0,64 | 0,066 | 0,78 | 0,406 | 0,068 | 0,371 | 0,098 | 0,214 | 0,35 | 0,180 | 0,44 | 0,204 | 0,38 | 0,191 | 0,408 |
| MIMP-2 | ALVF | -0,373 | 0,0795 | -0,374 | 0,079 | -0,136 | 0,54 | -0,123 | 0,58 | -0,370 | 0,083 | -0,333 | 0,12 | 0,107 | 0,63 | 0,086 | 0,696 |
| MIMP-3 | ALVF | -0,109 | 0,597 | -0,138 | 0,502 | -0,175 | 0,39 | -0,205 | 0,32 | -0,130 | 0,53 | -0,129 | 0,53 | -0,016 | 0,94 | -0,045 | 0,83 |
| MIMP-8 | ALVF | 0,033 | 0,88 | 0,050 | 0,82 | 0,238 | 0,28 | 0,244 | 0,26 | -0,325 | 0,13 | -0,314 | 0,14 | -0,009 | 0,97 | < 0,0001 | 1,0000 |
| MIMP-9 | ALVF | 0,090 | 0,65 | 0,102 | 0,605 | 0,467 | 0,012 | 0,450 | 0,016 | -0,097 | 0,62 | -0,061 | 0,76 | 0,329 | 0,087 | 0,325 | 0,092 |
| TIMP-2 | ALVF | -0,288 | 0,15 | -0,266 | 0,19 | -0,145 | 0,48 | -0,142 | 0,49 | -0,111 | 0,59 | -0,078 | 0,71 | -0,129 | 0,53 | -0,112 | 0,59 |
| TIMP-1 | FAS | -0,259 | 0,25 | -0,053 | 0,82 | -0,103 | 0,65 | -0,150 | 0,51 | -0,212 | 0,34 | 0,037 | 0,87 | -0,019 | 0,94 | 0,224 | 0,32 |
| MIMP-2 | FAS | -0,294 | 0,146 | -0,15 | 0,48 | -0,075 | 0,72 | -0,025 | 0,904 | -0,395 | 0,046 | -0,249 | 0,22 | -0,167 | 0,42 | -0,216 | 0,29 |
| MIMP-3 | FAS | 0,292 | 0,15 | 0,256 | 0,206 | 0,226 | 0,27 | 0,281 | 0,16 | 0,139 | 0,499 | 0,106 | 0,61 | 0,194 | 0,34 | 0,197 | 0,34 |
| MIMP-8 | FAS | -0,387 | 0,068 | -0,394 | 0,063 | -0,189 | 0,39 | -0,212 | 0,33 | -0,371 | 0,082 | -0,374 | 0,079 | -0,344 | 0,108 | -0,301 | 0,16 |

| Fortsetzung Tabelle 27: | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|------|--------|-------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|
| MIMP-9 | FAS | -0,072 | 0,72 | -0,042 | 0,83 | -0,247 | 0,21 | -0,263 | 0,18 | -0,033 | 0,87 | -0,009 | 0,97 | -0,181 | 0,36 | -0,189 | 0,34 |
| TIMP-2 | FAS | -0,028 | 0,89 | 0,122 | 0,55 | -0,262 | 0,196 | -0,233 | 0,25 | 0,196 | 0,34 | 0,380 | 0,056 | -0,204 | 0,32 | -0,141 | 0,49 |
| TIMP-1 | PERI | 0,077 | 0,63 | 0,072 | 0,65 | 0,143 | 0,37 | 0,140 | 0,38 | 0,063 | 0,69 | 0,051 | 0,75 | 0,143 | 0,37 | 0,169 | 0,29 |
| MIMP-2 | PERI | 0,216 | 0,15 | 0,224 | 0,14 | 0,426 | 0,0031 | 0,438 | 0,0023 | 0,072 | 0,64 | 0,108 | 0,48 | 0,424 | 0,0033 | 0,424 | 0,0033 |
| MIMP-3 | PERI | -0,048 | 0,76 | -0,109 | 0,49 | 0,210 | 0,18 | 0,169 | 0,29 | -0,029 | 0,86 | -0,007 | 0,97 | 0,198 | 0,209 | 0,150 | 0,34 |
| MIMP-8 | PERI | 0,211 | 0,16 | 0,268 | 0,076 | 0,407 | 0,0056 | 0,458 | 0,0016 | 0,171 | 0,26 | 0,215 | 0,16 | 0,293 | 0,0505 | 0,341 | 0,022 |
| MIMP-9 | PERI | 0,204 | 0,18 | 0,214 | 0,15 | 0,210 | 0,16 | 0,224 | 0,14 | 0,168 | 0,26 | 0,184 | 0,22 | 0,222 | 0,14 | 0,232 | 0,12 |
| TIMP-2 | PERI | -0,277 | 0,065 | -0,239 | 0,11 | 0,134 | 0,38 | 0,154 | 0,31 | -0,227 | 0,13 | -0,206 | 0,18 | 0,121 | 0,43 | 0,135 | 0,38 |

Zu Tabelle 27: Die Legende zu den Tabellen 27–31 findet sich im Anschluss an Tabelle 31.

Bei den Werten für r_s und p-Wert handelt es sich jeweils um gerundete Werte.

Tabelle 28: Ergebnisse der Bonferroni-Holm-Prozedur bezüglich der klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen (Parodontalerkrankung Grad 0-4)

| Bonferroni-Holm-Prozedur bezüglich der klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen, Score 1 | | | | | Bonferroni-Holm-Prozedur bezüglich der klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen, Score 2 | | | | |
|--|--------|---------------------------------|---|----|--|--------|---------------------------------|----|---|
| Score 1- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | α - Bonf. Holm (= α / k) | k | Score 2- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf. Holm (= α / k) |
| S1END22 | 0,0009 | 0,05 | 0,000595 | 84 | S2SLPE8 | 0,0004 | 0,05 | 84 | 0,000595 |
| S1SLPE8 | 0,0011 | 0,05 | 0,000602 | 83 | S2SLPG8 | 0,0019 | 0,05 | 83 | 0,000602 |
| S1EP22 | 0,0046 | 0,05 | 0,000610 | 82 | S2END22 | 0,0036 | 0,05 | 82 | 0,000610 |
| S1SLPG3 | 0,0047 | 0,05 | 0,0006173 | 81 | S2SLPE3 | 0,0071 | 0,05 | 81 | 0,000617 |
| S1SLPE3 | 0,0048 | 0,05 | 0,000625 | 80 | S2MLPG9 | 0,0083 | 0,05 | 80 | 0,000625 |
| S1SLPG8 | 0,0067 | 0,05 | 0,000633 | 79 | S2SLPG3 | 0,0093 | 0,05 | 79 | 0,000633 |
| S1STR22 | 0,0101 | 0,05 | 0,000641 | 78 | S2MLPG8 | 0,011 | 0,05 | 78 | 0,000641 |
| S1MLPG9 | 0,013 | 0,05 | 0,000649 | 77 | S2END1 | 0,011 | 0,05 | 77 | 0,000649 |
| S1MLPG8 | 0,016 | 0,05 | 0,000658 | 76 | S2STR1 | 0,012 | 0,05 | 76 | 0,000658 |
| S1SLPE9 | 0,017 | 0,05 | 0,000667 | 75 | S2EP22 | 0,018 | 0,05 | 75 | 0,000667 |
| S1SLPG9 | 0,0207 | 0,05 | 0,000676 | 74 | S2SLPG9 | 0,019 | 0,05 | 74 | 0,000676 |
| S1MLPE9 | 0,025 | 0,05 | 0,000685 | 73 | S2SLPF9 | 0,0205 | 0,05 | 73 | 0,000685 |
| S1SLPF9 | 0,027 | 0,05 | 0,000694 | 72 | S2SLPE9 | 0,023 | 0,05 | 72 | 0,000694 |
| S1MLPG2 | 0,037 | 0,05 | 0,000704 | 71 | S2MLPE9 | 0,027 | 0,05 | 71 | 0,000704 |
| S1END1 | 0,038 | 0,05 | 0,000714 | 70 | S2STR22 | 0,0303 | 0,05 | 70 | 0,000714 |
| S1STR1 | 0,038 | 0,05 | 0,000725 | 69 | S2SLPF2 | 0,034 | 0,05 | 69 | 0,000725 |
| S1SLPE2 | 0,0404 | 0,05 | 0,000735 | 68 | S2MLPF1 | 0,046 | 0,05 | 68 | 0,000735 |
| S1MLPF1 | 0,048 | 0,05 | 0,000746 | 67 | S2ALVE9 | 0,0600 | 0,05 | 67 | 0,000746 |
| S1ALVE9 | 0,064 | 0,05 | 0,000758 | 66 | S2FAS8 | 0,063 | 0,05 | 66 | 0,000758 |
| S1EP3 | 0,065 | 0,05 | 0,000769 | 65 | S2END2 | 0,068 | 0,05 | 65 | 0,000769 |

| Fortsetzung Tabelle 28: | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|
| Score 1- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) | Score 2- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) |
| S1PER122 | 0,065 | 0,05 | 64 | 0,000781 | S2MLPE8 | 0,0706 | 0,05 | 64 | 0,000781 |
| S1FAS8 | 0,068 | 0,05 | 63 | 0,000794 | S2EP3 | 0,071 | 0,05 | 63 | 0,000794 |
| S1MLPE8 | 0,073 | 0,05 | 62 | 0,000807 | S2PER18 | 0,076 | 0,05 | 62 | 0,000807 |
| S1ALVF2 | 0,0795 | 0,05 | 61 | 0,000820 | S2ALVF2 | 0,079 | 0,05 | 61 | 0,000820 |
| S1SLPF22 | 0,085 | 0,05 | 60 | 0,000833 | S2SLPE2 | 0,079 | 0,05 | 60 | 0,000833 |
| S1ALVG2 | 0,095 | 0,05 | 59 | 0,000848 | S2MLPG2 | 0,083 | 0,05 | 59 | 0,000848 |
| S1SLPF2 | 0,108 | 0,05 | 58 | 0,000862 | S2STR2 | 0,089 | 0,05 | 58 | 0,000862 |
| S1EP1 | 0,13 | 0,05 | 57 | 0,000877 | S2EP1 | 0,11 | 0,05 | 57 | 0,000877 |
| S1MLPF22 | 0,13 | 0,05 | 56 | 0,000893 | S2PER122 | 0,11 | 0,05 | 56 | 0,000893 |
| S1STR3 | 0,14 | 0,05 | 55 | 0,000909 | S2ALVG9 | 0,12 | 0,05 | 55 | 0,000909 |
| S1FAS2 | 0,15 | 0,05 | 54 | 0,000926 | S2STR3 | 0,13 | 0,05 | 54 | 0,000926 |
| S1FAS3 | 0,15 | 0,05 | 53 | 0,000943 | S2PER12 | 0,14 | 0,05 | 53 | 0,000943 |
| S1PER12 | 0,15 | 0,05 | 52 | 0,000962 | S2END3 | 0,15 | 0,05 | 52 | 0,000962 |
| S1ALVF22 | 0,15 | 0,05 | 51 | 0,000980 | S2ALVG2 | 0,15 | 0,05 | 51 | 0,000980 |
| S1MLPE2 | 0,16 | 0,05 | 50 | 0,001 | S2PER19 | 0,15 | 0,05 | 50 | 0,001 |
| S1PER18 | 0,16 | 0,05 | 49 | 0,00102 | S2MLPE2 | 0,16 | 0,05 | 49 | 0,00102 |
| S1PER19 | 0,18 | 0,05 | 48 | 0,00104 | S2ALVF22 | 0,19 | 0,05 | 48 | 0,00104 |
| S1ALVG3 | 0,196 | 0,05 | 47 | 0,00106 | S2SLPF22 | 0,19 | 0,05 | 47 | 0,00106 |
| S1SLPG22 | 0,22 | 0,05 | 46 | 0,00109 | S2FAS3 | 0,206 | 0,05 | 46 | 0,00109 |
| S1END2 | 0,22 | 0,05 | 45 | 0,00111 | S2MLPF3 | 0,25 | 0,05 | 45 | 0,00111 |
| S1FAS1 | 0,25 | 0,05 | 44 | 0,00114 | S2MLPF8 | 0,25 | 0,05 | 44 | 0,00114 |
| S1ALVG9 | 0,26 | 0,05 | 43 | 0,00116 | S2MLPF22 | 0,27 | 0,05 | 43 | 0,00116 |
| S1ALVG1 | 0,29 | 0,05 | 42 | 0,00119 | S2SLPF8 | 0,29 | 0,05 | 42 | 0,00119 |
| S1MLPF3 | 0,29 | 0,05 | 41 | 0,00122 | S2MLPG22 | 0,32 | 0,05 | 41 | 0,00122 |
| S1MLPF8 | 0,295 | 0,05 | 40 | 0,00125 | S2SLPE1 | 0,37 | 0,05 | 40 | 0,00125 |

| Fortsetzung Tabelle 28: | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|
| Score 1- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) | Score 2- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) |
| SISTR2 | 0,32 | 0,05 | 39 | 0,00128 | S2SLPG1 | 0,39 | 0,05 | 39 | 0,00128 |
| SI SLPF8 | 0,35 | 0,05 | 38 | 0,00132 | S2FAS2 | 0,48 | 0,05 | 38 | 0,00132 |
| SIMLPE3 | 0,39 | 0,05 | 37 | 0,00135 | S2PERI3 | 0,49 | 0,05 | 37 | 0,00135 |
| SIEND3 | 0,42 | 0,05 | 36 | 0,00139 | S2MLPF9 | 0,497 | 0,05 | 36 | 0,00139 |
| SI SLPE1 | 0,46 | 0,05 | 35 | 0,00143 | S2ALVF3 | 0,502 | 0,05 | 35 | 0,00143 |
| SI SLPG1 | 0,49 | 0,05 | 34 | 0,00147 | S2ALVE8 | 0,51 | 0,05 | 34 | 0,00147 |
| SIALVE8 | 0,51 | 0,05 | 33 | 0,00152 | S2MLPE3 | 0,53 | 0,05 | 33 | 0,00152 |
| SI EP8 | 0,51 | 0,05 | 32 | 0,00156 | S2MLPE22 | 0,54 | 0,05 | 32 | 0,00156 |
| SI SLPG2 | 0,56 | 0,05 | 31 | 0,00161 | S2SLPG22 | 0,55 | 0,05 | 31 | 0,00161 |
| SI STR8 | 0,59 | 0,05 | 30 | 0,00167 | S2FAS22 | 0,55 | 0,05 | 30 | 0,00167 |
| SIALVF3 | 0,597 | 0,05 | 29 | 0,00172 | S2SLPF3 | 0,57 | 0,05 | 29 | 0,00172 |
| SIMLPF9 | 0,62 | 0,05 | 28 | 0,00179 | S2ALVF9 | 0,61 | 0,05 | 28 | 0,00179 |
| SI SLPF3 | 0,62 | 0,05 | 27 | 0,00185 | S2SLPF1 | 0,65 | 0,05 | 27 | 0,00185 |
| SIPER11 | 0,63 | 0,05 | 26 | 0,00192 | S2PERI1 | 0,65 | 0,05 | 26 | 0,00192 |
| SIALVF1 | 0,64 | 0,05 | 25 | 0,002 | S2STR8 | 0,67 | 0,05 | 25 | 0,002 |
| SI SLPE22 | 0,64 | 0,05 | 24 | 0,00208 | S2ALVG3 | 0,67 | 0,05 | 24 | 0,00208 |
| SIALVG8 | 0,64 | 0,05 | 23 | 0,00217 | S2ALVE1 | 0,69 | 0,05 | 23 | 0,00217 |
| SIALVF9 | 0,65 | 0,05 | 22 | 0,00227 | S2SLPG2 | 0,702 | 0,05 | 22 | 0,00227 |
| SIMLPG22 | 0,66 | 0,05 | 21 | 0,00238 | S2END9 | 0,703 | 0,05 | 21 | 0,00238 |
| SI SLPF1 | 0,71 | 0,05 | 20 | 0,0025 | S2ALVG8 | 0,72 | 0,05 | 20 | 0,0025 |
| SIMLPF2 | 0,71 | 0,05 | 19 | 0,00263 | S2ALVG1 | 0,72 | 0,05 | 19 | 0,00263 |
| SIFAS9 | 0,72 | 0,05 | 18 | 0,00278 | S2EP8 | 0,74 | 0,05 | 18 | 0,00278 |
| SIMLPG3 | 0,75 | 0,05 | 17 | 0,00294 | S2ALVF1 | 0,78 | 0,05 | 17 | 0,00294 |
| SIPER13 | 0,76 | 0,05 | 16 | 0,00313 | S2FAS1 | 0,82 | 0,05 | 16 | 0,00313 |
| SIALVG22 | 0,77 | 0,05 | 15 | 0,00333 | S2MLPG3 | 0,82 | 0,05 | 15 | 0,00333 |

| Fortsetzung Tabelle 28: | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|
| Score 1- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) | Score 2- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) |
| S1STR9 | 0,79 | 0,05 | 14 | 0,00357 | S2ALVF8 | 0,82 | 0,05 | 14 | 0,00357 |
| S1END9 | 0,79 | 0,05 | 13 | 0,00385 | S2STR9 | 0,83 | 0,05 | 13 | 0,00385 |
| S1ALVE1 | 0,796 | 0,05 | 12 | 0,00417 | S2FAS9 | 0,83 | 0,05 | 12 | 0,00417 |
| S1END8 | 0,808 | 0,05 | 11 | 0,00455 | S2EP2 | 0,87 | 0,05 | 11 | 0,00455 |
| S1MLPE22 | 0,81 | 0,05 | 10 | 0,005 | S2ALVG22 | 0,87 | 0,05 | 10 | 0,005 |
| S1ALVE2 | 0,87 | 0,05 | 9 | 0,00556 | S2SLPE22 | 0,88 | 0,05 | 9 | 0,00556 |
| S1ALVF8 | 0,88 | 0,05 | 8 | 0,00625 | S2EP9 | 0,92 | 0,05 | 8 | 0,00625 |
| S1EP2 | 0,89 | 0,05 | 7 | 0,00714 | S2MLPF2 | 0,96 | 0,05 | 7 | 0,00714 |
| S1FAS22 | 0,89 | 0,05 | 6 | 0,00833 | S2MLPE1 | 0,96 | 0,05 | 6 | 0,00833 |
| S1EP9 | 0,94 | 0,05 | 5 | 0,01 | S2ALVE2 | 0,97 | 0,05 | 5 | 0,01 |
| S1MLPG1 | 0,95 | 0,05 | 4 | 0,0125 | S2END8 | 0,99 | 0,05 | 4 | 0,0125 |
| S1MLPE1 | 0,98 | 0,05 | 3 | 0,0167 | S2MLPG1 | 0,99 | 0,05 | 3 | 0,0167 |
| S1ALVE3 | 1,0000 | 0,05 | 2 | 0,025 | S2ALVE3 | 1,0000 | 0,05 | 2 | 0,025 |
| S1ALVE22 | 1,0000 | 0,05 | 1 | 0,05 | S2ALVE22 | 1,0000 | 0,05 | 1 | 0,05 |

Zu Tabelle 28: Die Legende zu den Tabellen 27–31 findet sich im Anschluss an Tabelle 31.

Bei den Werten für p-Wert und α -Bonf.Holm handelt es sich jeweils um gerundete Werte.

Tabelle 29: Ergebnisse der Bonferroni-Holm-Prozedur bezüglich des histologischen Entzündungsgrades

| Bonferroni-Holm-Prozedur bezüglich histologischer Entzündungsgrad, Score 1 | | | | | Bonferroni-Holm-Prozedur bezüglich histologischer Entzündungsgrad, Score 2 | | | | |
|--|----------|----------------------------|----|--|--|----------|----------------------------|----|--|
| Score 1-Lokalisation-MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanzniveau α | k | α -Bonf. Holm (= α / k) | Score 2-Lokalisation-MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanzniveau α | k | α -Bonf. Holm (= α / k) |
| S1SLPG9 | < 0,0001 | 0,05 | 84 | 0,000595 | S2SLPG9 | < 0,0001 | 0,05 | 84 | 0,000595 |
| S1SLPE2 | < 0,0001 | 0,05 | 83 | 0,000602 | S2SLPE2 | < 0,0001 | 0,05 | 83 | 0,000602 |
| S1SLPE3 | < 0,0001 | 0,05 | 82 | 0,000610 | S2SLPE3 | < 0,0001 | 0,05 | 82 | 0,000610 |
| S1SLPE8 | < 0,0001 | 0,05 | 81 | 0,000617 | S2SLPE8 | < 0,0001 | 0,05 | 81 | 0,000617 |
| S1MLPG9 | < 0,0001 | 0,05 | 80 | 0,000625 | S2SLPE9 | < 0,0001 | 0,05 | 80 | 0,000625 |
| S1MLPE2 | < 0,0001 | 0,05 | 79 | 0,000633 | S2MLPG9 | < 0,0001 | 0,05 | 79 | 0,000633 |
| S1SLPE9 | 0,0001 | 0,05 | 78 | 0,000641 | S2MLPE2 | < 0,0001 | 0,05 | 78 | 0,000641 |
| S1MLPE9 | 0,0001 | 0,05 | 77 | 0,000649 | S2MLPE9 | < 0,0001 | 0,05 | 77 | 0,000649 |
| S1SLPG8 | 0,0004 | 0,05 | 76 | 0,000658 | S2SLPG8 | 0,0001 | 0,05 | 76 | 0,000658 |
| S1SLPG3 | 0,0008 | 0,05 | 75 | 0,000667 | S2MLPG8 | 0,0002 | 0,05 | 75 | 0,000667 |
| S1MLPG8 | 0,0009 | 0,05 | 74 | 0,000676 | S2MLPE8 | 0,0007 | 0,05 | 74 | 0,000676 |
| S1MLPE3 | 0,0012 | 0,05 | 73 | 0,000685 | S2SLPG3 | 0,0013 | 0,05 | 73 | 0,000685 |
| S1MLPG2 | 0,0014 | 0,05 | 72 | 0,000694 | S2PER18 | 0,0016 | 0,05 | 72 | 0,000694 |
| S1MLPE8 | 0,0021 | 0,05 | 71 | 0,000704 | S2MLPG2 | 0,0017 | 0,05 | 71 | 0,000704 |
| S1SLPF9 | 0,0027 | 0,05 | 70 | 0,000714 | S2MLPE3 | 0,0017 | 0,05 | 70 | 0,000714 |
| S1PER12 | 0,0031 | 0,05 | 69 | 0,000725 | S2PER12 | 0,0023 | 0,05 | 69 | 0,000725 |
| S1PER18 | 0,0056 | 0,05 | 68 | 0,000735 | S2SLPF9 | 0,0027 | 0,05 | 68 | 0,000735 |
| S1SLPG2 | 0,0080 | 0,05 | 67 | 0,000746 | S2SLPG2 | 0,0036 | 0,05 | 67 | 0,000746 |
| S1ALVF9 | 0,012 | 0,05 | 66 | 0,000758 | S2STR3 | 0,0046 | 0,05 | 66 | 0,000758 |
| S1STR3 | 0,013 | 0,05 | 65 | 0,000769 | S2EP3 | 0,0051 | 0,05 | 65 | 0,000769 |
| S1EP3 | 0,021 | 0,05 | 64 | 0,000781 | S2STR1 | 0,0067 | 0,05 | 64 | 0,000781 |

| Fortsetzung Tabelle 29: | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|
| Score 1- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) | Score 2- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) |
| S1STR1 | 0,027 | 0,05 | 63 | 0,000794 | S2ALVF9 | 0,016 | 0,05 | 63 | 0,000794 |
| S1MLPG22 | 0,034 | 0,05 | 62 | 0,000807 | S2MLPG22 | 0,018 | 0,05 | 62 | 0,000807 |
| S1ALVE9 | 0,042 | 0,05 | 61 | 0,000820 | S2MLPF8 | 0,025 | 0,05 | 61 | 0,000820 |
| S1MLPF8 | 0,053 | 0,05 | 60 | 0,000833 | S2ALVE9 | 0,0401 | 0,05 | 60 | 0,000833 |
| S1MLPG3 | 0,062 | 0,05 | 59 | 0,000848 | S2EP1 | 0,054 | 0,05 | 59 | 0,000848 |
| S1ALVF1 | 0,068 | 0,05 | 58 | 0,000862 | S2MLPF9 | 0,066 | 0,05 | 58 | 0,000862 |
| S1EP1 | 0,079 | 0,05 | 57 | 0,000877 | S2SLPF1 | 0,074 | 0,05 | 57 | 0,000877 |
| S1ALVE1 | 0,082 | 0,05 | 56 | 0,000893 | S2MLPG1 | 0,083 | 0,05 | 56 | 0,000893 |
| S1MLPG1 | 0,084 | 0,05 | 55 | 0,000909 | S2EP9 | 0,096 | 0,05 | 55 | 0,000909 |
| S1MLPF9 | 0,089 | 0,05 | 54 | 0,000926 | S2ALVF1 | 0,098 | 0,05 | 54 | 0,000926 |
| S1EP9 | 0,107 | 0,05 | 53 | 0,000943 | S2ALVE1 | 0,1000 | 0,05 | 53 | 0,000943 |
| S1STR2 | 0,14 | 0,05 | 52 | 0,000962 | S2MLPG3 | 0,103 | 0,05 | 52 | 0,000962 |
| S1ALVG3 | 0,14 | 0,05 | 51 | 0,000980 | S2STR2 | 0,11 | 0,05 | 51 | 0,000980 |
| S1SLPF22 | 0,15 | 0,05 | 50 | 0,001 | S2SLPF22 | 0,12 | 0,05 | 50 | 0,001 |
| S1STR9 | 0,16 | 0,05 | 49 | 0,00102 | S2STR9 | 0,13 | 0,05 | 49 | 0,00102 |
| S1PER19 | 0,16 | 0,05 | 48 | 0,00104 | S2PER19 | 0,14 | 0,05 | 48 | 0,00104 |
| S1END22 | 0,18 | 0,05 | 47 | 0,00106 | S2END22 | 0,15 | 0,05 | 47 | 0,00106 |
| S1PER13 | 0,18 | 0,05 | 46 | 0,00109 | S2MLPE22 | 0,15 | 0,05 | 46 | 0,00109 |
| S1SLPF2 | 0,195 | 0,05 | 45 | 0,00111 | S2FAS3 | 0,16 | 0,05 | 45 | 0,00111 |
| S1FAS22 | 0,196 | 0,05 | 44 | 0,00114 | S2FAS9 | 0,18 | 0,05 | 44 | 0,00114 |
| S1SLPF1 | 0,198 | 0,05 | 43 | 0,00116 | S2END1 | 0,18 | 0,05 | 43 | 0,00116 |
| S1MLPF2 | 0,2007 | 0,05 | 42 | 0,00119 | S2STR22 | 0,19 | 0,05 | 42 | 0,00119 |
| S1FAS9 | 0,205 | 0,05 | 41 | 0,00122 | S2SLPF2 | 0,19 | 0,05 | 41 | 0,00122 |
| S1MLPE22 | 0,21 | 0,05 | 40 | 0,00125 | S2MLPF1 | 0,202 | 0,05 | 40 | 0,00125 |
| S1ALVE8 | 0,21 | 0,05 | 39 | 0,00128 | S2EP22 | 0,208 | 0,05 | 39 | 0,00128 |

| Fortsetzung Tabelle 29: | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|
| Score 1- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) | Score 2- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) |
| S1EP22 | 0,25 | 0,05 | 38 | 0,00132 | S2ALVE8 | 0,21 | 0,05 | 38 | 0,00132 |
| S1STR22 | 0,25 | 0,05 | 37 | 0,00135 | S2SLPF8 | 0,22 | 0,05 | 37 | 0,00135 |
| S1FAS3 | 0,27 | 0,05 | 36 | 0,00139 | S2MLPF2 | 0,22 | 0,05 | 36 | 0,00139 |
| S1ALVF8 | 0,28 | 0,05 | 35 | 0,00143 | S2FAS22 | 0,25 | 0,05 | 35 | 0,00143 |
| S1SLPF8 | 0,28 | 0,05 | 34 | 0,00147 | S2END3 | 0,25 | 0,05 | 34 | 0,00147 |
| S1END3 | 0,302 | 0,05 | 33 | 0,00152 | S2ALVF8 | 0,26 | 0,05 | 33 | 0,00152 |
| S1END1 | 0,309 | 0,05 | 32 | 0,00156 | S2PERI3 | 0,29 | 0,05 | 32 | 0,00156 |
| S1ALVG2 | 0,33 | 0,05 | 31 | 0,00161 | S2PERI22 | 0,31 | 0,05 | 31 | 0,00161 |
| S1EP2 | 0,35 | 0,05 | 30 | 0,00167 | S2ALVF3 | 0,32 | 0,05 | 30 | 0,00167 |
| S1ALVG22 | 0,36 | 0,05 | 29 | 0,00172 | S2FAS8 | 0,33 | 0,05 | 29 | 0,00172 |
| S1PERI1 | 0,37 | 0,05 | 28 | 0,00179 | S2EP2 | 0,35 | 0,05 | 28 | 0,00179 |
| S1PERI22 | 0,38 | 0,05 | 27 | 0,00185 | S2ALVG3 | 0,37 | 0,05 | 27 | 0,00185 |
| S1FAS8 | 0,39 | 0,05 | 26 | 0,00192 | S2PERI1 | 0,38 | 0,05 | 26 | 0,00192 |
| S1ALVF3 | 0,39 | 0,05 | 25 | 0,002 | S2ALVG2 | 0,38 | 0,05 | 25 | 0,002 |
| S1MLPF1 | 0,41 | 0,05 | 24 | 0,00208 | S2SLPE22 | 0,39 | 0,05 | 24 | 0,00208 |
| S1MLPE1 | 0,42 | 0,05 | 23 | 0,00217 | S2END2 | 0,39 | 0,05 | 23 | 0,00217 |
| S1END2 | 0,43 | 0,05 | 22 | 0,00227 | S2MLPE1 | 0,44 | 0,05 | 22 | 0,00227 |
| S1SLPE22 | 0,43 | 0,05 | 21 | 0,00238 | S2ALVG9 | 0,45 | 0,05 | 21 | 0,00238 |
| S1SLPG1 | 0,46 | 0,05 | 20 | 0,0025 | S2EP8 | 0,47 | 0,05 | 20 | 0,0025 |
| S1ALVG9 | 0,48 | 0,05 | 19 | 0,00263 | S2ALVG22 | 0,48 | 0,05 | 19 | 0,00263 |
| S1ALVF22 | 0,48 | 0,05 | 18 | 0,00278 | S2ALVF22 | 0,49 | 0,05 | 18 | 0,00278 |
| S1SLPF3 | 0,503 | 0,05 | 17 | 0,00294 | S2SLPE1 | 0,5000 | 0,05 | 17 | 0,00294 |
| S1SLPE1 | 0,52 | 0,05 | 16 | 0,00313 | S2STR8 | 0,504 | 0,05 | 16 | 0,00313 |
| S1END9 | 0,52 | 0,05 | 15 | 0,00333 | S2FAS1 | 0,506 | 0,05 | 15 | 0,00333 |
| S1ALVF2 | 0,54 | 0,05 | 14 | 0,00357 | S2SLPF3 | 0,53 | 0,05 | 14 | 0,00357 |

| Fortsetzung Tabelle 29: | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|---|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|---|
| Score 1- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf. Holm (= α / k) | Score 2- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf. Holm (= α / k) |
| S1ALVG8 | 0,63 | 0,05 | 13 | 0,00385 | S2SLPG1 | 0,55 | 0,05 | 13 | 0,00385 |
| S1FAS1 | 0,65 | 0,05 | 12 | 0,00417 | S2ALVF2 | 0,58 | 0,05 | 12 | 0,00417 |
| S1FAS2 | 0,72 | 0,05 | 11 | 0,00455 | S2ALVG8 | 0,58 | 0,05 | 11 | 0,00455 |
| S1STR8 | 0,75 | 0,05 | 10 | 0,005 | S2END9 | 0,67 | 0,05 | 10 | 0,005 |
| S1END8 | 0,75 | 0,05 | 9 | 0,00556 | S2MLPF3 | 0,77 | 0,05 | 9 | 0,00556 |
| S1MLPF22 | 0,83 | 0,05 | 8 | 0,00625 | S2ALVE2 | 0,802 | 0,05 | 8 | 0,00625 |
| S1SLPG22 | 0,83 | 0,05 | 7 | 0,00714 | S2MLPF22 | 0,83 | 0,05 | 7 | 0,00714 |
| S1EP8 | 0,85 | 0,05 | 6 | 0,00833 | S2ALVG1 | 0,86 | 0,05 | 6 | 0,00833 |
| S1ALVG1 | 0,89 | 0,05 | 5 | 0,01 | S2FAS2 | 0,904 | 0,05 | 5 | 0,01 |
| S1MLPF3 | 0,89 | 0,05 | 4 | 0,0125 | S2SLPG22 | 0,92 | 0,05 | 4 | 0,0125 |
| S1ALVE2 | 0,92 | 0,05 | 3 | 0,0167 | S2END8 | 0,95 | 0,05 | 3 | 0,0167 |
| S1ALVE3 | 1,0000 | 0,05 | 2 | 0,025 | S2ALVE3 | 1,0000 | 0,05 | 2 | 0,025 |
| S1ALVE22 | 1,0000 | 0,05 | 1 | 0,05 | S2ALVE22 | 1,0000 | 0,05 | 1 | 0,05 |

Zu Tabelle 29: Die Legende zu den Tabellen 27–31 findet sich im Anschluss an Tabelle 31.

Bei den Werten für p-Wert und α -Bonf. Holm handelt es sich jeweils um gerundete Werte.

Tabelle 30: Ergebnisse der Bonferroni-Holm-Prozedur bezüglich des klinisch ermittelten Gingivitisindex

| Bonferroni-Holm-Prozedur bezüglich klinisch ermitteltem Gingivitisindex, Score 1 | | | | | Bonferroni-Holm-Prozedur bezüglich klinisch ermitteltem Gingivitisindex, Score 2 | | | | |
|--|--------|---------------------------------|----|---|--|--------|---------------------------------|----|---|
| Score 1- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf. Holm (= α / k) | Score 2- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf. Holm (= α / k) |
| S1MLPF3 | 0,038 | 0,05 | 84 | 0,000595 | S2ALVG8 | 0,039 | 0,05 | 84 | 0,000595 |
| S1FAS2 | 0,046 | 0,05 | 83 | 0,000602 | S2FAS22 | 0,056 | 0,05 | 83 | 0,000602 |
| S1ALVG2 | 0,049 | 0,05 | 82 | 0,000610 | S2MLPF3 | 0,056 | 0,05 | 82 | 0,000610 |
| S1ALVG8 | 0,0496 | 0,05 | 81 | 0,000617 | S2EP1 | 0,063 | 0,05 | 81 | 0,000617 |
| S1FAS8 | 0,082 | 0,05 | 80 | 0,000625 | S2ALVE1 | 0,064 | 0,05 | 80 | 0,000625 |
| S1ALVF2 | 0,083 | 0,05 | 79 | 0,000633 | S2ALVG2 | 0,0699 | 0,05 | 79 | 0,000633 |
| S1ALVE1 | 0,0904 | 0,05 | 78 | 0,000641 | S2FAS8 | 0,079 | 0,05 | 78 | 0,000641 |
| S1EP1 | 0,096 | 0,05 | 77 | 0,000649 | S2END1 | 0,102 | 0,05 | 77 | 0,000649 |
| S1SLPF22 | 0,12 | 0,05 | 76 | 0,000658 | S2ALVF2 | 0,12 | 0,05 | 76 | 0,000658 |
| S1END1 | 0,12 | 0,05 | 75 | 0,000667 | S2EP9 | 0,13 | 0,05 | 75 | 0,000667 |
| S1EP9 | 0,12 | 0,05 | 74 | 0,000676 | S2MLPE2 | 0,13 | 0,05 | 74 | 0,000676 |
| S1ALVF8 | 0,13 | 0,05 | 73 | 0,000685 | S2ALVF8 | 0,14 | 0,05 | 73 | 0,000685 |
| S1PERI22 | 0,13 | 0,05 | 72 | 0,000694 | S2STR1 | 0,15 | 0,05 | 72 | 0,000694 |
| S1MLPE2 | 0,14 | 0,05 | 71 | 0,000704 | S2PERI8 | 0,16 | 0,05 | 71 | 0,000704 |
| S1STR1 | 0,18 | 0,05 | 70 | 0,000714 | S2PERI22 | 0,18 | 0,05 | 70 | 0,000714 |
| S1STR9 | 0,204 | 0,05 | 69 | 0,000725 | S2SLPF22 | 0,19 | 0,05 | 69 | 0,000725 |
| S1ALVE8 | 0,207 | 0,05 | 68 | 0,000735 | S2ALVG9 | 0,19 | 0,05 | 68 | 0,000735 |
| S1STR2 | 0,22 | 0,05 | 67 | 0,000746 | S2ALVE8 | 0,207 | 0,05 | 67 | 0,000746 |
| S1MLPG3 | 0,22 | 0,05 | 66 | 0,000758 | S2FAS2 | 0,22 | 0,05 | 66 | 0,000758 |
| S1SLPF3 | 0,25 | 0,05 | 65 | 0,000769 | S2PERI9 | 0,22 | 0,05 | 65 | 0,000769 |
| S1MLPF1 | 0,25 | 0,05 | 64 | 0,000781 | S2SLPE2 | 0,22 | 0,05 | 64 | 0,000781 |

Fortsetzung Tabelle 30:

| Score 1- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) | Score 2- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) |
|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|
| S1PER18 | 0,26 | 0,05 | 63 | 0,000794 | S2END8 | 0,23 | 0,05 | 63 | 0,000794 |
| S1PER19 | 0,26 | 0,05 | 62 | 0,000807 | S2MLPF1 | 0,24 | 0,05 | 62 | 0,000807 |
| S1SLPG8 | 0,27 | 0,05 | 61 | 0,000820 | S2STR9 | 0,28 | 0,05 | 61 | 0,000820 |
| S1SLPG22 | 0,28 | 0,05 | 60 | 0,0008333 | S2MLPG3 | 0,29 | 0,05 | 60 | 0,000833 |
| S1END8 | 0,28 | 0,05 | 59 | 0,000848 | S2STR8 | 0,297 | 0,05 | 59 | 0,000848 |
| S1STR8 | 0,29 | 0,05 | 58 | 0,000862 | S2SLPG8 | 0,3002 | 0,05 | 58 | 0,000862 |
| S1END22 | 0,31 | 0,05 | 57 | 0,000877 | S2EP8 | 0,32 | 0,05 | 57 | 0,000877 |
| S1FAS22 | 0,34 | 0,05 | 56 | 0,000893 | S2STR2 | 0,33 | 0,05 | 56 | 0,000893 |
| S1FAS1 | 0,34 | 0,05 | 55 | 0,000909 | S2SLPG9 | 0,36 | 0,05 | 55 | 0,000909 |
| S1EP8 | 0,35 | 0,05 | 54 | 0,000926 | S2SLPF1 | 0,37 | 0,05 | 54 | 0,000926 |
| S1ALVF1 | 0,35 | 0,05 | 53 | 0,000943 | S2SLPF8 | 0,38 | 0,05 | 53 | 0,000943 |
| S1SLPE2 | 0,36 | 0,05 | 52 | 0,000962 | S2MLPE9 | 0,38 | 0,05 | 52 | 0,000962 |
| S1SLPF8 | 0,37 | 0,05 | 51 | 0,000980 | S2MLPG2 | 0,39 | 0,05 | 51 | 0,000980 |
| S1SLPF1 | 0,39 | 0,05 | 50 | 0,001 | S2MLPF8 | 0,43 | 0,05 | 50 | 0,001 |
| S1STR22 | 0,397 | 0,05 | 49 | 0,00102 | S2ALVF1 | 0,44 | 0,05 | 49 | 0,00102 |
| S1SLPE22 | 0,402 | 0,05 | 48 | 0,00104 | S2END22 | 0,45 | 0,05 | 48 | 0,00104 |
| S1ALVG9 | 0,43 | 0,05 | 47 | 0,00106 | S2SLPE1 | 0,45 | 0,05 | 47 | 0,00106 |
| S1SLPF9 | 0,43 | 0,05 | 46 | 0,00109 | S2MLPG9 | 0,47 | 0,05 | 46 | 0,00109 |
| S1MLPE9 | 0,45 | 0,05 | 45 | 0,00111 | S2SLPF3 | 0,47 | 0,05 | 45 | 0,00111 |
| S1EP2 | 0,45 | 0,05 | 44 | 0,00114 | S2PER12 | 0,48 | 0,05 | 44 | 0,00114 |
| S1MLPF8 | 0,45 | 0,05 | 43 | 0,00116 | S2MLPF22 | 0,48 | 0,05 | 43 | 0,00116 |
| S1MLPF22 | 0,47 | 0,05 | 42 | 0,00119 | S2MLPE3 | 0,496 | 0,05 | 42 | 0,00119 |
| S1SLPG9 | 0,47 | 0,05 | 41 | 0,00122 | S2SLPG22 | 0,496 | 0,05 | 41 | 0,00122 |
| S1MLPG2 | 0,49 | 0,05 | 40 | 0,00125 | S2ALVF3 | 0,53 | 0,05 | 40 | 0,00125 |
| S1FAS3 | 0,499 | 0,05 | 39 | 0,00128 | S2ALVE9 | 0,54 | 0,05 | 39 | 0,00128 |

| Fortsetzung Tabelle 30: | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|
| Score 1- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) | Score 2- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) |
| SIALVF3 | 0,53 | 0,05 | 38 | 0,00132 | S2SLPF9 | 0,55 | 0,05 | 38 | 0,00132 |
| SI1SLPE8 | 0,54 | 0,05 | 37 | 0,00135 | S2SLPG2 | 0,56 | 0,05 | 37 | 0,00135 |
| SI1SLPE1 | 0,55 | 0,05 | 36 | 0,00139 | S2SLPE9 | 0,56 | 0,05 | 36 | 0,00139 |
| SI1ALVE2 | 0,57 | 0,05 | 35 | 0,00143 | S2END3 | 0,57 | 0,05 | 35 | 0,00143 |
| SIEND3 | 0,58 | 0,05 | 34 | 0,00147 | S2SLPE22 | 0,57 | 0,05 | 34 | 0,00147 |
| SI1ALVF22 | 0,59 | 0,05 | 33 | 0,00152 | S2FAS3 | 0,61 | 0,05 | 33 | 0,00152 |
| SI1ALVE9 | 0,59 | 0,05 | 32 | 0,00156 | S2STR22 | 0,62 | 0,05 | 32 | 0,00156 |
| SI1EP22 | 0,604 | 0,05 | 31 | 0,00161 | S2MLPE8 | 0,64 | 0,05 | 31 | 0,00161 |
| SI1MLPE3 | 0,62 | 0,05 | 30 | 0,00167 | S2SLPE8 | 0,65 | 0,05 | 30 | 0,00167 |
| SI1ALVF9 | 0,62 | 0,05 | 29 | 0,00172 | S2ALVG3 | 0,66 | 0,05 | 29 | 0,00172 |
| SIEND9 | 0,63 | 0,05 | 28 | 0,00179 | S2ALVE2 | 0,66 | 0,05 | 28 | 0,00179 |
| SI1PER12 | 0,64 | 0,05 | 27 | 0,00185 | S2SLPE3 | 0,66 | 0,05 | 27 | 0,00185 |
| SI1MLPG9 | 0,64 | 0,05 | 26 | 0,00192 | S2ALVG22 | 0,67 | 0,05 | 26 | 0,00192 |
| SI1ALVG1 | 0,65 | 0,05 | 25 | 0,002 | S2EP2 | 0,68 | 0,05 | 25 | 0,002 |
| SI1MLPE8 | 0,68 | 0,05 | 24 | 0,00208 | S2ALVG1 | 0,69 | 0,05 | 24 | 0,00208 |
| SI1PER11 | 0,69 | 0,05 | 23 | 0,00217 | S2ALVF22 | 0,71 | 0,05 | 23 | 0,00217 |
| SI1SLPE3 | 0,75 | 0,05 | 22 | 0,00227 | S2PER11 | 0,75 | 0,05 | 22 | 0,00227 |
| SI1MLPF2 | 0,76 | 0,05 | 21 | 0,00238 | S2ALVF9 | 0,76 | 0,05 | 21 | 0,00238 |
| SI1MLPG8 | 0,77 | 0,05 | 20 | 0,0025 | S2MLPE1 | 0,77 | 0,05 | 20 | 0,0025 |
| SI1SLPE9 | 0,77 | 0,05 | 19 | 0,00263 | S2MLPG8 | 0,78 | 0,05 | 19 | 0,00263 |
| SI1SLPG2 | 0,78 | 0,05 | 18 | 0,00278 | S2SLPG3 | 0,796 | 0,05 | 18 | 0,00278 |
| SI1MLPE1 | 0,79 | 0,05 | 17 | 0,00294 | S2EP3 | 0,803 | 0,05 | 17 | 0,00294 |
| SI1MLPF9 | 0,82 | 0,05 | 16 | 0,00313 | S2MLPF9 | 0,83 | 0,05 | 16 | 0,00313 |
| SI1ALVG3 | 0,85 | 0,05 | 15 | 0,00333 | S2STR3 | 0,86 | 0,05 | 15 | 0,00333 |
| SI1PER13 | 0,86 | 0,05 | 14 | 0,00357 | S2FAS1 | 0,87 | 0,05 | 14 | 0,00357 |

| Fortsetzung Tabelle 30: | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|
| Score 1- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) | Score 2- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) |
| S1FAS9 | 0,87 | 0,05 | 13 | 0,00385 | S2SLPF2 | 0,88 | 0,05 | 13 | 0,00385 |
| S1SLPG3 | 0,87 | 0,05 | 12 | 0,00417 | S2MLPG22 | 0,88 | 0,05 | 12 | 0,00417 |
| S1EP3 | 0,87 | 0,05 | 11 | 0,00455 | S2END2 | 0,904 | 0,05 | 11 | 0,00455 |
| S1ALVG22 | 0,91 | 0,05 | 10 | 0,005 | S2END9 | 0,907 | 0,05 | 10 | 0,005 |
| S1END2 | 0,91 | 0,05 | 9 | 0,00556 | S2SLPG1 | 0,908 | 0,05 | 9 | 0,00556 |
| S1SLPF2 | 0,92 | 0,05 | 8 | 0,00625 | S2MLPE22 | 0,908 | 0,05 | 8 | 0,00625 |
| S1SLPG1 | 0,92 | 0,05 | 7 | 0,00714 | S2MLPF2 | 0,96 | 0,05 | 7 | 0,00714 |
| S1MLPE22 | 0,96 | 0,05 | 6 | 0,00833 | S2EP22 | 0,96 | 0,05 | 6 | 0,00833 |
| S1STR3 | 0,96 | 0,05 | 5 | 0,01 | S2FAS9 | 0,97 | 0,05 | 5 | 0,01 |
| S1MLPG1 | 0,97 | 0,05 | 4 | 0,0125 | S2PERI3 | 0,97 | 0,05 | 4 | 0,0125 |
| S1MLPG22 | 0,996 | 0,05 | 3 | 0,0167 | S2MLPG1 | 0,998 | 0,05 | 3 | 0,0167 |
| S1ALVE3 | 1,0000 | 0,05 | 2 | 0,025 | S2ALVE3 | 1,0000 | 0,05 | 2 | 0,025 |
| S1ALVE22 | 1,0000 | 0,05 | 1 | 0,05 | S2ALVE22 | 1,0000 | 0,05 | 1 | 0,05 |

Zu Tabelle 30: Die Legende zu den Tabellen 27–31 findet sich im Anschluss an Tabelle 31.

Bei den Werten für p-Wert und α -Bonf.Holm handelt es sich jeweils um gerundete Werte.

Tabelle 31: Ergebnisse der Bonferroni-Holm-Prozedur bezüglich des Kollagenfasergehaltes

| Bonferroni-Holm-Prozedur bezüglich des Kollagenfasergehaltes, Score 1 | | | | | Bonferroni-Holm-Prozedur bezüglich des Kollagenfasergehaltes, Score 2 | | | | |
|--|----------|---------------------------------|----|---|--|----------|---------------------------------|----|---|
| Score 1- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf. Holm (= α / k) | Score 2- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf. Holm (= α / k) |
| S1SLPG9 | < 0,0001 | 0,05 | 84 | 0,000595 | S2SLPG9 | < 0,0001 | 0,05 | 84 | 0,000595 |
| S1SLPE2 | < 0,0001 | 0,05 | 83 | 0,000602 | S2SLPE2 | < 0,0001 | 0,05 | 83 | 0,000602 |
| S1MLPG9 | 0,0001 | 0,05 | 82 | 0,000610 | S2SLPE8 | 0,0001 | 0,05 | 82 | 0,000610 |
| S1SLPE8 | 0,0003 | 0,05 | 81 | 0,000617 | S2MLPG9 | 0,0001 | 0,05 | 81 | 0,000617 |
| S1SLPE3 | 0,0004 | 0,05 | 80 | 0,000625 | S2SLPE9 | 0,0002 | 0,05 | 80 | 0,000625 |
| S1SLPE9 | 0,0006 | 0,05 | 79 | 0,000633 | S2SLPE3 | 0,0009 | 0,05 | 79 | 0,000633 |
| S1PER12 | 0,0033 | 0,05 | 78 | 0,000641 | S2SLPG8 | 0,0018 | 0,05 | 78 | 0,000641 |
| S1SLPG8 | 0,0040 | 0,05 | 77 | 0,000649 | S2SLPF9 | 0,0027 | 0,05 | 77 | 0,000649 |
| S1SLPF9 | 0,0051 | 0,05 | 76 | 0,000658 | S2PER12 | 0,0033 | 0,05 | 76 | 0,000658 |
| S1STR1 | 0,0058 | 0,05 | 75 | 0,000667 | S2SLPG2 | 0,0034 | 0,05 | 75 | 0,000667 |
| S1SLPG2 | 0,0072 | 0,05 | 74 | 0,000676 | S2STR1 | 0,0059 | 0,05 | 74 | 0,000676 |
| S1STR3 | 0,016 | 0,05 | 73 | 0,000685 | S2STR3 | 0,016 | 0,05 | 73 | 0,000685 |
| S1MLPE2 | 0,017 | 0,05 | 72 | 0,000694 | S2EP3 | 0,017 | 0,05 | 72 | 0,000694 |
| S1EP3 | 0,022 | 0,05 | 71 | 0,000704 | S2MLPE2 | 0,022 | 0,05 | 71 | 0,000704 |
| S1MLPG2 | 0,024 | 0,05 | 70 | 0,000714 | S2PER18 | 0,022 | 0,05 | 70 | 0,000714 |
| S1SLPG3 | 0,034 | 0,05 | 69 | 0,000725 | S2MLPG2 | 0,023 | 0,05 | 69 | 0,000725 |
| S1EP1 | 0,046 | 0,05 | 68 | 0,000735 | S2SLPG3 | 0,057 | 0,05 | 68 | 0,000735 |
| S1PER18 | 0,051 | 0,05 | 67 | 0,000746 | S2MLPE9 | 0,066 | 0,05 | 67 | 0,000746 |
| S1MLPE9 | 0,066 | 0,05 | 66 | 0,000758 | S2ALVF9 | 0,092 | 0,05 | 66 | 0,000758 |
| S1ALVF9 | 0,087 | 0,05 | 65 | 0,000769 | S2EP9 | 0,108 | 0,05 | 65 | 0,000769 |
| S1ALVG3 | 0,097 | 0,05 | 64 | 0,000781 | S2ALVE9 | 0,11 | 0,05 | 64 | 0,000781 |
| S1FAS8 | 0,108 | 0,05 | 63 | 0,000794 | S2MLPF9 | 0,12 | 0,05 | 63 | 0,000794 |
| S1ALVE9 | 0,11 | 0,05 | 62 | 0,000807 | S2PER19 | 0,12 | 0,05 | 62 | 0,000807 |

| Fortsetzung Tabelle 31: | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|
| Score 1- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) | Score 2- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) |
| S1MLPG3 | 0,12 | 0,05 | 61 | 0,000820 | S2EP1 | 0,12 | 0,05 | 61 | 0,000820 |
| S1EP9 | 0,14 | 0,05 | 60 | 0,000833 | S2MLPG8 | 0,16 | 0,05 | 60 | 0,000833 |
| S1PER19 | 0,14 | 0,05 | 59 | 0,000848 | S2FAS8 | 0,16 | 0,05 | 59 | 0,000848 |
| S1MLPF2 | 0,16 | 0,05 | 58 | 0,000862 | S2SLPE22 | 0,17 | 0,05 | 58 | 0,000862 |
| S1ALVG8 | 0,19 | 0,05 | 57 | 0,000877 | S2MLPF2 | 0,18 | 0,05 | 57 | 0,000877 |
| S1STR2 | 0,195 | 0,05 | 56 | 0,000893 | S2ALVG22 | 0,204 | 0,05 | 56 | 0,000893 |
| S1MLPF9 | 0,2002 | 0,05 | 55 | 0,000909 | S2STR9 | 0,21 | 0,05 | 55 | 0,000909 |
| S1PER13 | 0,21 | 0,05 | 54 | 0,000926 | S2ALVG8 | 0,22 | 0,05 | 54 | 0,000926 |
| S1ALVG22 | 0,21 | 0,05 | 53 | 0,000943 | S2MLPG1 | 0,22 | 0,05 | 53 | 0,000943 |
| S1SLPE22 | 0,22 | 0,05 | 52 | 0,000962 | S2MLPG3 | 0,23 | 0,05 | 52 | 0,000962 |
| S1EP8 | 0,23 | 0,05 | 51 | 0,000980 | S2STR8 | 0,23 | 0,05 | 51 | 0,000980 |
| S1STR9 | 0,23 | 0,05 | 50 | 0,001 | S2STR2 | 0,23 | 0,05 | 50 | 0,001 |
| S1MLPE3 | 0,24 | 0,05 | 49 | 0,00102 | S2SLPF1 | 0,26 | 0,05 | 49 | 0,00102 |
| S1STR8 | 0,24 | 0,05 | 48 | 0,00104 | S2ALVG3 | 0,26 | 0,05 | 48 | 0,00104 |
| S1MLPG1 | 0,26 | 0,05 | 47 | 0,00106 | S2ALVG9 | 0,27 | 0,05 | 47 | 0,00106 |
| S1MLPG8 | 0,296 | 0,05 | 46 | 0,00109 | S2PER11 | 0,29 | 0,05 | 46 | 0,00109 |
| S1END8 | 0,304 | 0,05 | 45 | 0,00111 | S2STR22 | 0,29 | 0,05 | 45 | 0,00111 |
| S1FAS22 | 0,32 | 0,05 | 44 | 0,00114 | S2FAS2 | 0,29 | 0,05 | 44 | 0,00114 |
| S1SLPF1 | 0,32 | 0,05 | 43 | 0,00116 | S2EP8 | 0,31 | 0,05 | 43 | 0,00116 |
| S1END1 | 0,33 | 0,05 | 42 | 0,00119 | S2FAS1 | 0,32 | 0,05 | 42 | 0,00119 |
| S1ALVG9 | 0,34 | 0,05 | 41 | 0,00122 | S2EP22 | 0,32 | 0,05 | 41 | 0,00122 |
| S1FAS3 | 0,34 | 0,05 | 40 | 0,00125 | S2MLPE3 | 0,34 | 0,05 | 40 | 0,00125 |
| S1FAS9 | 0,36 | 0,05 | 39 | 0,00128 | S2FAS9 | 0,34 | 0,05 | 39 | 0,00128 |
| S1PER11 | 0,37 | 0,05 | 38 | 0,00132 | S2FAS3 | 0,34 | 0,05 | 38 | 0,00132 |
| S1ALVF1 | 0,38 | 0,05 | 37 | 0,00135 | S2PER13 | 0,34 | 0,05 | 37 | 0,00135 |

| Fortsetzung Tabelle 31: | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|--|
| Score 1- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) | Score 2- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) |
| SI1EP22 | 0,38 | 0,05 | 36 | 0,00139 | S2END22 | 0,35 | 0,05 | 36 | 0,00139 |
| SI1END22 | 0,38 | 0,05 | 35 | 0,00143 | S2END1 | 0,36 | 0,05 | 35 | 0,00143 |
| SI1EP2 | 0,39 | 0,05 | 34 | 0,00147 | S2ALVG1 | 0,37 | 0,05 | 34 | 0,00147 |
| SI1STR22 | 0,39 | 0,05 | 33 | 0,00152 | S2PERI22 | 0,38 | 0,05 | 33 | 0,00152 |
| SI1FAS2 | 0,42 | 0,05 | 32 | 0,00156 | S2SLPE1 | 0,39 | 0,05 | 32 | 0,00156 |
| SI1MLPE22 | 0,43 | 0,05 | 31 | 0,00161 | S2ALVF1 | 0,408 | 0,05 | 31 | 0,00161 |
| SI1PERI22 | 0,43 | 0,05 | 30 | 0,00167 | S2MLPF8 | 0,44 | 0,05 | 30 | 0,00167 |
| SI1MLPG22 | 0,46 | 0,05 | 29 | 0,00172 | S2END8 | 0,44 | 0,05 | 29 | 0,00172 |
| SI1END3 | 0,5004 | 0,05 | 28 | 0,00179 | S2EP2 | 0,46 | 0,05 | 28 | 0,00179 |
| SI1SLPE1 | 0,501 | 0,05 | 27 | 0,00185 | S2MLPG22 | 0,47 | 0,05 | 27 | 0,00185 |
| SI1SLPF22 | 0,502 | 0,05 | 26 | 0,00192 | S2SLPF22 | 0,49 | 0,05 | 26 | 0,00192 |
| SI1ALVF22 | 0,53 | 0,05 | 25 | 0,002 | S2FAS22 | 0,49 | 0,05 | 25 | 0,002 |
| SI1SLPG1 | 0,53 | 0,05 | 24 | 0,00208 | S2SLPG1 | 0,499 | 0,05 | 24 | 0,00208 |
| SI1ALVE1 | 0,57 | 0,05 | 23 | 0,00217 | S2MLPE22 | 0,51 | 0,05 | 23 | 0,00217 |
| SI1MLPF8 | 0,62 | 0,05 | 22 | 0,00227 | S2ALVE1 | 0,57 | 0,05 | 22 | 0,00227 |
| SI1ALVF2 | 0,63 | 0,05 | 21 | 0,00238 | S2SLPF3 | 0,57 | 0,05 | 21 | 0,00238 |
| SI1ALVE8 | 0,66 | 0,05 | 20 | 0,0025 | S2ALVF22 | 0,59 | 0,05 | 20 | 0,0025 |
| SI1SLPG22 | 0,68 | 0,05 | 19 | 0,00263 | S2SLPG22 | 0,59 | 0,05 | 19 | 0,00263 |
| SI1SLPF3 | 0,707 | 0,05 | 18 | 0,00278 | S2END3 | 0,59 | 0,05 | 18 | 0,00278 |
| SI1MLPF1 | 0,72 | 0,05 | 17 | 0,00294 | S2ALVE8 | 0,66 | 0,05 | 17 | 0,00294 |
| SI1SLPF8 | 0,76 | 0,05 | 16 | 0,00313 | S2ALVE2 | 0,68 | 0,05 | 16 | 0,00313 |
| SI1MLPF22 | 0,77 | 0,05 | 15 | 0,00333 | S2ALVF2 | 0,696 | 0,05 | 15 | 0,00333 |
| SI1MLPE1 | 0,86 | 0,05 | 14 | 0,00357 | S2MLPF1 | 0,702 | 0,05 | 14 | 0,00357 |
| SI1ALVG1 | 0,86 | 0,05 | 13 | 0,00385 | S2END9 | 0,72 | 0,05 | 13 | 0,00385 |
| SI1MLPF3 | 0,87 | 0,05 | 12 | 0,00417 | S2ALVG2 | 0,78 | 0,05 | 12 | 0,00417 |

| Fortsetzung Tabelle 31: | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|---|---------------------------------------|--------|---------------------------------|----|---|
| Score 1- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) | Score 2- Lokalisation- MMP/TIMP | p-Wert | Signifikanz- niveau α | k | α - Bonf.Holm (= α / k) |
| S1ALVE2 | 0,88 | 0,05 | 11 | 0,00455 | S2SLPF8 | 0,798 | 0,05 | 11 | 0,00455 |
| S1MLPE8 | 0,91 | 0,05 | 10 | 0,005 | S2MLPE1 | 0,82 | 0,05 | 10 | 0,005 |
| S1END9 | 0,94 | 0,05 | 9 | 0,00556 | S2ALVF3 | 0,83 | 0,05 | 9 | 0,00556 |
| S1FAS1 | 0,94 | 0,05 | 8 | 0,00625 | S2MLPF22 | 0,84 | 0,05 | 8 | 0,00625 |
| S1ALVF3 | 0,94 | 0,05 | 7 | 0,00714 | S2SLPF2 | 0,84 | 0,05 | 7 | 0,00714 |
| S1SLPF2 | 0,95 | 0,05 | 6 | 0,00833 | S2MLPE8 | 0,85 | 0,05 | 6 | 0,00833 |
| S1END2 | 0,95 | 0,05 | 5 | 0,01 | S2MLPF3 | 0,99 | 0,05 | 5 | 0,01 |
| S1ALVF8 | 0,97 | 0,05 | 4 | 0,0125 | S2END2 | 0,99 | 0,05 | 4 | 0,0125 |
| S1ALVG2 | 0,97 | 0,05 | 3 | 0,0167 | S2ALVE3 | 1,0000 | 0,05 | 3 | 0,0167 |
| S1ALVE3 | 1,0000 | 0,05 | 2 | 0,025 | S2ALVE22 | 1,0000 | 0,05 | 2 | 0,025 |
| S1ALVE22 | 1,0000 | 0,05 | 1 | 0,05 | S2ALVF8 | 1,0000 | 0,05 | 1 | 0,05 |

Zu Tabelle 31: Die Legende zu den Tabellen 27–31 findet sich im Anschluss an Tabelle 31.

Bei den Werten für p-Wert und α -Bonf.Holm handelt es sich jeweils um gerundete Werte.

Legende zu Tabelle 27-31:

ALVE = Alveolarknochenbereich Entzündungszellen

ALVF = Alveolarknochenbereich Fibrozyten / Fibroblasten

ALVG = Alveolarknochenbereich gesamt

END = Endothel

EP = Epithel

FAS = Alveolarknochenbereich faserassoziiert

MLPE = Mittlere Lamina propria Entzündungszellen
 MLPF = Mittlere Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten
 MLPG = Mittlere Lamina propria gesamt
 PERI = Perivaskuläre Infiltrate
 SLPE = Subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen
 SLPF = Subepitheliale Lamina propria Fibrozyten / Fibroblasten
 SLPG = Subepitheliale Lamina propria gesamt
 STR = Stratum basale

S1 = Score 1

S2 = Score 2

1 = TIMP-1

2 = MMP-2

3 = MMP-3

8 = MMP-8

9 = MMP-9

22 = TIMP-2

k: Im Rahmen der Bonferroni-Holm-Prozedur wird das globale Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$ dividiert durch k. Bei k handelt es sich um die Zahl der untersuchten Variablen (84) minus die Zahl der bereits durchgeführten Divisionen.

9.8 Auswertungsbogen für HE-Schnitte

| | |
|------------------------|--|
| Patient-Nr. | |
| Vorhandene HE-Schnitte | |
| Datum | |

| | |
|---|--------------------------------|
| HE-Schnitt, Nr. (Vergrößerung 40-400fach) | |
| Qualität und Auswertbarkeit | |
| Morphologische Beschreibung 1. Epithel 2. Kollagenfasern 3. Alveolarknochen 4. Entzündungszellen (wo, wie viele) | |
| Infiltrierende Entzündungszellen | Vorherrschend: Weitere: |
| Grad der entzündl. Veränderungen (sehr ggr, ggr, mgr, hgr) | |
| Pathohistologische Diagnose (ggr/mgr/hgr, akute/subakute/chronische, fokale/multifokale/dissemin./diffuse, eitrig/ulzerative ... Gingivitis) | |

Anmerkungen:

Skizze mit Vermerk über Kollagenfasergehalt in subepithelialer und mittlerer Lamina propria:

Korrekturen:

9.9 Auswertungsbogen für die Immunhistologie

| | |
|-------------|--|
| MMP/TIMP | |
| Patient-Nr. | |
| Datum | |

| | |
|--|--------------------------------|
| HE-Schnitt, Nr. (Vergrößerung 40-400fach) | |
| Qualität und Auswertbarkeit | |
| Morphologische Beschreibung 5. Epithel 6. Kollagenfasern 7. Alveolarknochen 8. Entzündungszellen (wo, wie viele) | |
| Infiltrierende Entzündungszellen | Vorherrschend: Weitere: |
| Grad der entzündl. Veränderungen (sehr ggr, ggr, mgr, hgr) | |
| Pathohistologische Diagnose (ggr/mgr/hgr, akute/subakute/chronische, fokale/multifokale/dissemin./diffuse, eitrige/ulzerative ... Gingivitis) | |

| | |
|-------------------------|--|
| Positivkontrolle | |
| Negativkontrolle | |

Färbeintensität gesamter Immunhistologie-Schnitt (schwach, mittelstark, stark):

Skizze Immunhistologie-Schnitt:

Anmerkungen, z.B. Foto:

| | | | | |
|--|----------------------------------|---|--|--------------------------------------|
| Immunhistologie-Schnitt Nr. (Vergrößerung 400fach) | | | | |
| Positive Zellen in: | Zellzahl (HE-Schnitt) | Anzahl pos. Zellen (0, 1, 2, 3, 4) | Signalintensität (0, 1, 2, 3) | Immunhistologischer Score |
| Epithel gesamt | ----- | | | |
| Epithel: <i>Stratum basale</i> | ----- | | | |
| Lamina propria subepithelial gesamt | | | | |
| Lam. propria subepithelial: <i>Entzündungszellen</i> | | | | |
| Lam. propria subepithelial: <i>Fibroblasten/Fibrozyten</i> | | | | |
| Mittlere Lam. propria gesamt | | | | |
| Mittlere Lam. propria: <i>Entzündungszellen</i> | | | | |
| Mittlere Lam. propria: <i>Fibroblasten/Fibrozyten</i> | | | | |
| Endothelien | ----- | | | |
| Perivaskuläre Infiltrate | | | | |
| Alveolarknochenbereich gesamt | | | | |
| Alveolarknochenbereich: <i>Entzündungszellen</i> | | | | |
| Alveolarknochenbereich: <i>Fibroblasten/Fibrozyten</i> | | | | |
| Alveolarknochenbereich: <i>faserassoziert</i> | ----- | | | |
| Osteoblasten | | | | |
| Osteoklasten | | | | |

9.10 Lösungen und Puffer für die Immunhistologie

PBS (Phosphate Buffered Saline, phosphatgepufferte Salzlösung):

40g NaCl

+ 8,8g Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat

+ 4950ml Aqua dest.

pH mit ca. 50 ml Natronlauge auf 7,0-7,5 einstellen

DAB (3,3'-Diaminobenzidine-tetrahydrochloride Dihydrate):

0,1g DAB

Ad 200ml PBS

Auf dem Magnetrührer mischen

+ 250 µl 30 % H_2O_2

85 % Ethanol mit 0,5 % H_2O_2 :

985 ml 85 % Ethanol und 15 ml 30 % H_2O_2 auf dem Magnetrührer mischen.

Ziegennormalserum:

Frisches Vollblut für 5h im Kühlschrank lagern.

Serum abpipettieren und zentrifugieren (30 min, 190 x G).

Überstehendes Serum abpipettieren, für 30 min in ein Wasserbad (56°C) zur Inaktivierung von Komplementkomponenten.

Portionieren und lagern bei -20°C.

9.11 Bezugsquellen von Reagenzien und Antikörpern

Biologo, Dr. Hartmut Schultheiß e.K., Immunbiologische Produkte, Kronshagen

Aszitesflüssigkeit von nicht-immunisierten Balb/cJ Mäusen, CL8100

Roth C. GmbH & Co. KG, Karlsruhe

Essigsäurebutylester (EBE), 4600

Ethanol, vergällt, K928.2

Hämalaunlösung sauer nach Mayer, T865.2

2-Propanol (Isopropanol), 9866.2

Natriumchlorid, P029.2

Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat, K300.2

Roticlear®, A5381

Roti®-Histokitt II, T160.2

Roti®-Plast, Gewebeeinbettungsmedium, 6642.6

Rotiprotect®-Nitrilhandschuhe, P777.1

Wasserstoffperoxid, 8070.1

Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen

Bovines Serumalbumin (BSA), A-3059

3,3'-Diaminobenzidine-tetrahydrochloride Dihydrate (DAB), 32750

Kaninchenserum, R4505

Thermo Fisher Scientific GmbH, Dreieich

MMP-2 (72kDa Collagenase IV) Ab-1 (Clone CA-4001)

Triple Point Biologics, Inc., Forest Grove, Oregon, USA

R-HMMP-3:

Rabbit Antibody to Stromelysin-1 (MMP-3); Whole molecule

SPA-MMP-8:

Superpool of domain-specific rabbit polyclonal antibodies to human MMP-8

RM105-MMP9:

Rabbit Antibody to Gelatinase-B (MMP-9); full length MMP-9 Native Protein

RP3-TIMP1:

Rabbit Antibody to TIMP-1 (Tissue Inhibitor of Metalloproteinases) Carboxyterminal region

RP2-TIMP2:

Rabbit Antibody to TIMP-2 (Tissue Inhibitor of Metalloproteinases 2) Loop #1

Vector Laboratories Inc., Burlingame, Kalifornien, USA, über Biologo, Kronshagen

Biotiniliertes Ziege-anti-Kaninchen-Immunglobulin, BA 1000

Biotiniliertes Ziege-anti-Maus-Immunglobulin, BA 9200

Vectastain® Elite® ABC-Kit, PK 6100

9.12 Bezugsquellen für Laborgeräte und Zubehör

Engelbrecht Medizin- und Labortechnik GmbH, Edermünde

Automat-Star Deckgläser für Mikroskopie (24 x 40 mm)

Starfrost® Objektträger

Gerhard Menzel GmbH, Braunschweig

Superfrost®Plus Objektträger, 041300

Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel

Paraffinstreckbad 1052

Heraeus Sepatech GmbH, Osterode

Zentrifuge Labofuge®A, 2500

Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch

Färbegerät Leica ST 4040

Microm, Heidelberg

HM 350, halbautomatisches Mikrotom

Medite Medizintechnik, Burgdorf

Objektträger-Eindeckautomat Promounter RCM 2000

Olympus, Hamburg

Olympus BX 51 Mikroskop, Mikroskopkamera Olympus DP 72

Olympus CX40 Mikroskop

Sartorius AG, Göttingen

Elektronische Präzisionswaage LA 2200P

Thermo Electron GmbH, Dreieich

Shandon Coverplates™, 72110013

Shandon Sequenza® Slide Racks (Einsätze für Coverplates), 7331017

Pathcentre (Gewebeeinbettungsapparat)

Vogel GmbH & Co. Kg, Gießen

TissueTec® TEC™ 5, Einbettssystem

9.13 Bezugsquellen von Anästhetika, Parodontalsonde, Biopsiestanzen und Röntgen-anlage

Albrecht, Aulendorf

Isoflo®

B. Braun Melsungen AG, Melsungen

Atropinsulfat B. Braun 0,5 mg/ml Injektionslösung

Sterofundin®, Lösung zur intravenösen Infusion, 1/1 E

Comet AG, Liebfeld, Schweiz

X-Ray Collimator Type Collimat M

Kai Europe GmbH, Solingen

Einmal-Biopsie-Stanze, Durchmesser 3mm

Medistar® Arzneimittelvertrieb GmbH, Ascheberg

Ketamin 10% Injektionslösung für Hunde und Katzen

Xylazin 2% Bernburg

Ratiopharm GmbH, Ulm

Diazepam-ratiopharm® 10mg/2ml Injektionslösung

Zoetis Deutschland GmbH, Berlin

Parodontalsonde

9.14 Abbildungsverzeichnis

| | | |
|--------------------|---|-------|
| Abbildung 1 | <i>Schematische Darstellung eines Zahnes mit seinem parodontalen Halteapparat (Abbildung modifiziert nach EICKHOFF, 2008).</i> | S. 7 |
| Abbildung 2 | <i>Nach Triadan modifiziertes Zahnschema der FDI.</i> | S. 38 |
| Abbildung 3 | <i>Abbildung 3a: Parodontalsonde (Zoetis).</i> | S. 39 |
| | <i>Abbildung 3b: Untersuchung der Mundhöhle mittels Parodontalsonde.</i> | S. 39 |
| Abbildung 4 | <i>Abbildung 4a: Einmal-Biopsie-Stanze, Durchmesser 3 mm, kai Europe GmbH, Solingen.</i> | S. 44 |
| | <i>Abbildung 4b: Entnahme einer Gingivaprobe auf Höhe des rechten Oberkiefercaninus mittels Biopsie-Stanze.</i> | S. 44 |
| Abbildung 5 | <i>Das Zellpellet DH82, eine Makrophagen/Monozyten-Zell-Linie eines disseminierten histiozytären Sarkoms bei einem Hund, dient als Positivkontrolle für MMP-2, MMP-9, TIMP-1 und TIMP-2. HE-Färbung.</i> | S. 48 |
| Abbildung 6 | <i>Ein persistent mit dem Onderstepoort-Stamm des kaninen Staupevirus infiziertes DH82-Zellpellet dient als Positivkontrolle für MMP-3. HE-Färbung.</i> | S. 48 |
| Abbildung 7 | <i>Ein kanines Spindelzellkarzinom der Mamma dient als Positivkontrolle für MMP-8. HE-Färbung.</i> | S. 48 |
| Abbildung 8 | <i>Im Vergleich dargestellt sind a) eine physiologische Gingiva mit unverändertem Kollagenfasergehalt, b) eine mittelgradig entzündete Gingiva mit fokaler Verdrängung bzw. Auflockerung der Kollagenfasern durch infiltrierende mononukleäre Entzündungszellen (schwarzer Pfeil) und c) eine hochgradig entzündete Gingiva mit hochgradiger, generalisierter Verdrängung der Kollagenfasern (gelbe Pfeile) durch eine hochgradige, diffuse Infiltration mit vorwiegend mononukleären Entzündungszellen (weiße Pfeile). HE-Färbung.</i> | S. 57 |
| Abbildung 9 | <i>Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von MMP-2 im DH82-Zellpellet. Es zeigt sich ein deutliches, feingranuläres bis grobkörniges, braunes zytoplasmatisches Signal in ca. 80-90 % der Zellen.</i> | S. 61 |

| | | |
|---------------------|--|-------|
| Abbildung 10 | <i>Exemplarische Darstellung einer Negativkontrolle der immunhistologischen Darstellung (ABC-Methode) von MMP-2 im DH82-Zellpellet. Es zeigt sich kein spezifisches Signal. Das gleiche Bild zeigt sich in den Negativkontrollen von MMP-9, TIMP-1 und TIMP-2.</i> | S. 61 |
| Abbildung 11 | <i>Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von MMP-2 in hochgradig entzündeter gingivaler Schleimhaut. Es zeigt sich ein feingranuläres, braunes zytoplasmatisches Signal in den dargestellten mononukleären Entzündungszellen.</i> | S. 62 |
| Abbildung 12 | <i>Exemplarische Darstellung einer Negativkontrolle der immunhistologischen Darstellung (ABC-Methode) von MMP-2 in hochgradig entzündeter gingivaler Schleimhaut. Es zeigt sich kein spezifisches Signal. Das gleiche Bild zeigt sich in den Negativkontrollen von MMP-3, MMP-8, MMP-9, TIMP-1 und TIMP-2.</i> | S. 62 |
| Abbildung 13 | <i>Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von MMP-3 im persistent infizierten DH82-Zellpellet. Es zeigt sich ein feingranuläres, teilweise diffus verwaschenes, braunes zytoplasmatisches Signal in ca. 80 % der Zellen.</i> | S. 63 |
| Abbildung 14 | <i>Negativkontrolle der immunhistologischen Darstellung (ABC-Methode) von MMP-3 im persistent infizierten DH82-Zellpellet. Es zeigt sich kein spezifisches Signal.</i> | S. 63 |
| Abbildung 15 | <i>Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von MMP-3 in hochgradig entzündeter gingivaler Schleimhaut. Es zeigt sich ein klumpiges, braunes zytoplasmatisches Signal in den dargestellten mononukleären Entzündungszellen.</i> | S. 64 |
| Abbildung 16 | <i>Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von MMP-8 in einem kaninen Spindelzellkarzinom der Mamma. Es zeigt sich ein deutliches positives, braunes Signal der tubulären Epithelien.</i> | S. 64 |
| Abbildung 17 | <i>Negativkontrolle der immunhistologischen Darstellung (ABC-Methode) von MMP-8 in einem kaninen Spindelzellkarzinom der Mamma. Es zeigt sich kein spezifisches Signal. Im Epithel sind dunkelbraune Melaninpigmente vorhanden.</i> | S. 65 |
| Abbildung 18 | <i>Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von MMP-8 in hochgradig entzündeter gingivaler Schleimhaut. Es zeigt sich ein feingranuläres, braunes zytoplasmatisches Signal in den dargestellten mononukleären Entzündungszellen.</i> | S. 65 |

| | | |
|---------------------|---|-------|
| Abbildung 19 | <i>Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von MMP-9 im DH82-Zellpellet. Es zeigt sich ein feingranuläres, teilweise diffus verwaschenes, braunes zytoplasmatisches Signal in ca. 80 % der Zellen.</i> | S. 66 |
| Abbildung 20 | <i>Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von MMP-9 in hochgradig entzündeter gingivaler Schleimhaut. Es zeigt sich ein klumpiges, braunes zytoplasmatisches Signal in den dargestellten mononukleären Entzündungszellen.</i> | S. 66 |
| Abbildung 21 | <i>Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von TIMP-1 im DH82-Zellpellet. Es zeigt sich ein schwaches, feingranuläres, braunes zytoplasmatisches Signal in ca. 80 % der Zellen.</i> | S. 67 |
| Abbildung 22 | <i>Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von TIMP-1 in hochgradig entzündeter gingivaler Schleimhaut. Es zeigt sich ein feingranuläres, braunes zytoplasmatisches Signal in den dargestellten mononukleären Entzündungszellen.</i> | S. 67 |
| Abbildung 23 | <i>Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von TIMP-2 im DH82-Zellpellet. Es zeigt sich ein feingranuläres, teilweise diffus verwaschenes, braunes zytoplasmatisches Signal in ca. 80 % der Zellen.</i> | S. 68 |
| Abbildung 24 | <i>Immunhistologische Darstellung (ABC-Methode) von TIMP-2 in hochgradig entzündeter gingivaler Schleimhaut. Es zeigt sich ein feingranuläres, braunes zytoplasmatisches Signal in den dargestellten mononukleären Entzündungszellen.</i> | S. 68 |
| Abbildung 25 | <i>Grafische Darstellung der zweidimensionalen Häufigkeitsauszählung zwischen dem histologischen Entzündungsgrad und der klinischen Einteilung in Grade der Parodontalerkrankung.</i> | S. 70 |
| Abbildung 26 | <i>Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-2 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen“ und dem pathohistologischen Entzündungsgrad.</i> | S. 72 |
| Abbildung 27 | <i>Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-2 an der Lokalisation „mittlere Lamina propria Entzündungszellen“ und dem pathohistologischen Entzündungsgrad.</i> | S. 73 |
| Abbildung 28 | <i>Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-3 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen“ und dem pathohistologischen Entzündungsgrad.</i> | S. 73 |

| | | |
|---------------------|---|-------|
| Abbildung 29 | <i>Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-8 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria gesamt“ und dem pathohistologischen Entzündungsgrad.</i> | S. 74 |
| Abbildung 30 | <i>Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-8 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen“ und dem pathohistologischen Entzündungsgrad.</i> | S. 74 |
| Abbildung 31 | <i>Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-9 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria gesamt“ und dem pathohistologischen Entzündungsgrad.</i> | S. 75 |
| Abbildung 32 | <i>Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-9 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen“ und dem pathohistologischen Entzündungsgrad.</i> | S. 75 |
| Abbildung 33 | <i>Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-9 an der Lokalisation „mittlere Lamina propria gesamt“ und dem pathohistologischen Entzündungsgrad.</i> | S. 76 |
| Abbildung 34 | <i>Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-9 an der Lokalisation „mittlere Lamina propria Entzündungszellen“ und dem pathohistologischen Entzündungsgrad.</i> | S. 76 |
| Abbildung 35 | <i>Darstellung des Zusammenhangs zwischen zunehmender Veränderung im Kollagenfasergehalt und dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad.</i> | S. 77 |
| Abbildung 36 | <i>Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-2 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen“ und dem Kollagenfasergehalt.</i> | S. 79 |
| Abbildung 37 | <i>Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-8 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen“ und dem Kollagenfasergehalt.</i> | S. 80 |
| Abbildung 38 | <i>Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-9 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria gesamt“ und dem Kollagenfasergehalt.</i> | S. 80 |

- Abbildung 39** *Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-9 an der Lokalisation „subepitheliale Lamina propria Entzündungszellen“ und dem Kollagenfasergehalt.* S. 81
- Abbildung 40** *Darstellung des Zusammenhangs zwischen den immunhistologischen Scores S1 und S2 von MMP-9 an der Lokalisation „mittlere Lamina propria gesamt“ und dem Kollagenfasergehalt.* S. 81

9.15 Tabellenverzeichnis

| | | |
|-------------------|---|--------|
| Tabelle 1 | <i>Einteilung einer Auswahl an Matrix-Metalloproteinasen aufgrund ihrer Substratspezifität (nach VISSE und NAGASE, 2003)</i> | S. 19 |
| Tabelle 2 | <i>Einteilung der bislang bei Vertebraten bekannten Matrix-Metalloproteinasen in Strukturklassen sowie Nennung einer Auswahl ihrer Synonyme und Substrate (nach ALLDINGER, 2009)</i> | S. 20 |
| Tabelle 3 | <i>Schematischer Aufbau der Matrix-Metalloproteinasen (nach ALLDINGER, 2009)</i> | S. 25 |
| Tabelle 4 | <i>Übersicht über die untersuchten Hunde</i> | S. 122 |
| Tabelle 5 | <i>Modifizierter Gingivitisindex nach LÖE und SILNESS (1963) anhand des klinischen Befundes (LÖE und SILNESS, 1963; LÖE, 1967; EICKHOFF, 2005; GORREL, 2006)</i> | S. 40 |
| Tabelle 6 | <i>Einteilung des Furkationsbefalls anhand klinischer Befunde in verschiedene Grade (EICKHOFF, 2005; GORREL, 2006)</i> | S. 40 |
| Tabelle 7 | <i>Radiologischer Parodontalindex (EICKHOFF, 2005; MIHALJEVIĆ, 2010)</i> | S. 41 |
| Tabelle 8 | <i>Einteilung in die verschiedenen Stadien der Parodontalerkrankung (EICKHOFF, 2005; WOLF et al., 2005; AVDC, 2010)</i> | S. 43 |
| Tabelle 9 | <i>Übersicht über die verwendeten Primär- und Sekundärantikörper</i> | S. 131 |
| Tabelle 10 | <i>Übersicht über die klinische Untersuchung und die histologische Untersuchung der HE-Schnitte</i> | S. 56 |
| Tabelle 11 | <i>In folgenden Fällen besteht ein statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit der klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen</i> | S. 132 |
| Tabelle 12 | <i>In folgenden Fällen besteht ein fraglich statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit der klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen</i> | S. 133 |
| Tabelle 13 | <i>In folgenden Fällen kann kein statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit der klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen festgestellt werden</i> | S. 133 |

| | | |
|-------------------|---|--------|
| Tabelle 14 | <i>In folgenden Fällen besteht ein statistisch auffälliger und signifikanter Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad</i> | S. 136 |
| Tabelle 15 | <i>In folgenden Fällen besteht ein statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad</i> | S. 137 |
| Tabelle 16 | <i>In folgendem Fall besteht ein knapp nicht statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad</i> | S. 138 |
| Tabelle 17 | <i>In folgenden Fällen kann kein statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit dem histologisch ermittelten Entzündungsgrad festgestellt werden</i> | S. 138 |
| Tabelle 18 | <i>In folgendem Fall besteht ein statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit dem klinisch ermittelten Gingivitisindex</i> | S. 140 |
| Tabelle 19 | <i>In folgendem Fall besteht ein knapp nicht statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit dem klinisch ermittelten Gingivitisindex</i> | S. 140 |
| Tabelle 20 | <i>In folgenden Fällen besteht ein fraglich statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit dem klinisch ermittelten Gingivitisindex</i> | S. 140 |
| Tabelle 21 | <i>In folgenden Fällen kann kein statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit dem klinisch ermittelten Gingivitisindex festgestellt werden</i> | S. 141 |
| Tabelle 22 | <i>In folgenden Fällen besteht ein statistisch auffälliger und signifikanter Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt</i> | S. 143 |
| Tabelle 23 | <i>In folgenden Fällen besteht ein statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt</i> | S. 144 |
| Tabelle 24 | <i>In folgenden Fällen besteht ein knapp nicht statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt</i> | S. 144 |

| | | |
|-------------------|---|--------|
| Tabelle 25 | <i>In folgendem Fall besteht ein fraglich statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt</i> | S. 145 |
| Tabelle 26 | <i>In folgenden Fällen kann kein statistisch auffälliger Zusammenhang zwischen den immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs mit der zunehmenden Veränderung im Kollagenfasergehalt festgestellt werden</i> | S. 145 |
| Tabelle 27 | <i>Übersicht über die Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman r_s und die zugehörigen p-Werte für die immunhistologischen Scores der MMPs und TIMPs an verschiedenen Lokalisationen</i> | S. 148 |
| Tabelle 28 | <i>Ergebnisse der Bonferroni-Holm-Prozedur bezüglich der klinischen Einteilung der Patienten in Gruppen (Parodontalerkrankung Grad 0-4)</i> | S. 152 |
| Tabelle 29 | <i>Ergebnisse der Bonferroni-Holm-Prozedur bezüglich des histologischen Entzündungsgrades</i> | S. 156 |
| Tabelle 30 | <i>Ergebnisse der Bonferroni-Holm-Prozedur bezüglich des klinisch ermittelten Gingivitisindex</i> | S. 160 |
| Tabelle 31 | <i>Ergebnisse der Bonferroni-Holm-Prozedur bezüglich des Kollagenfasergehaltes</i> | S. 164 |

Danksagung

Ich möchte mich bei allen bedanken, die mich bei der Erstellung meiner Dissertation unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Martin Kramer und meinen beiden Betreuerinnen, Frau PD Dr. Susanne Alldinger und Frau Dr. Cetina Thiel, für die Überlassung des Dissertationsthemas, die hervorragende Unterstützung bei der Anfertigung der Arbeit und vor allem die immer rasche und konstruktive Korrektur des Manuskripts.

Bei Frau PD Dr. Susanne Alldinger möchte ich mich insbesondere für die Bereitstellung des Mikroskops, die große Geduld bei der Durchsicht der Präparate und die hervorragende Betreuung bei allen Fragen zu MMPs und zur Immunhistologie bedanken.

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. Wolfgang Baumgärtner, Ph.D., Frau Barbara Raddatz, Frau Petra Grünig und allen anderen Mitarbeitern des Instituts für Pathologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover für die Bereitstellung ihres Labors, die Unterstützung und hervorragende Betreuung bei der Anfertigung der Präparate und Durchführung der immunhistologischen Reaktionen.

Herrn Dr. Thorsten Förnges möchte ich besonders herzlich danken für das geduldige Besprechen meiner klinischen Befunde.

Ich möchte mich bei meiner Co-Doktorandin Isabelle Ritz dafür bedanken, dass wir nicht nur gemeinsam das „Exil“ in Hannover überstanden haben, sondern auch alle anderen Widrigkeiten und Überraschungen bei der Erstellung unserer Dissertationen, getreu dem Motto „geteiltes Leid ist halbes Leid“, gemeistert haben.

Mein herzlicher Dank gilt auch Herrn Dr. Klaus Failing, Frau Marion Sparenberg und Herrn Andreas Schaubmar von der AG Biomathematik und Datenverarbeitung für die Beratung bei der Studienplanung und die statistische Auswertung meiner Daten.

Bei den Mitarbeitern des Instituts für Anatomie der Justus-Liebig-Universität möchte ich mich herzlich für die freundliche Bereitstellung ihres Monitor-Mikroskops bedanken.

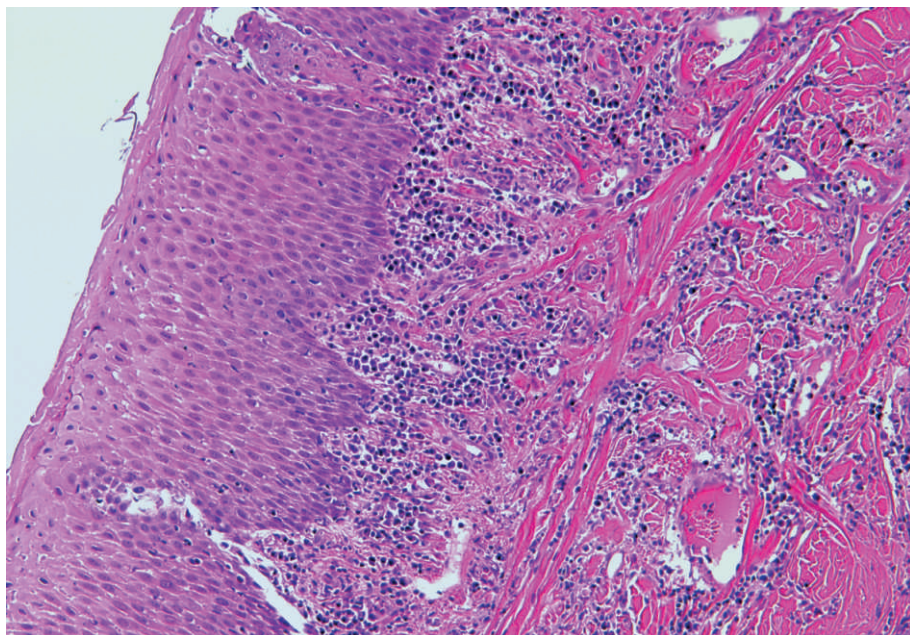
Mein besonderer Dank gilt allen meinen Kolleginnen und Kollegen an der Klinik für Kleintiere der Justus-Liebig-Universität sowie allen Tierbesitzern und ihren Hunden, die mich beim klinischen Teil dieser Arbeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern, meiner Familie und Manuel Solbach, ohne deren Unterstützung und Geduld die Umsetzung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Erklärung

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Susanne Maria Kaiser



ISBN 978-3-86345-207-0



Verlag: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft Service GmbH
35392 Gießen · Friedrichstraße 17 · Tel. 0641 / 24466 · Fax: 0641 / 25375
E-Mail: info@dvf.de · Internet: www.dvf.de